



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO



Centro Universitario UAEM Tenancingo



**MICORRIZA ARBUSCULAR EN *Rosa hybrida* CULTIVADA EN COATEPEC
HARINAS Y TENANCINGO, ESTADO DE MÉXICO**

T E S I S

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

INGENIERO AGRÓNOMO EN FLORICULTURA

P R E S E N T A

JOSÉ GABRIEL OCAMPO NAVA

DIRECTORES

M. en C. Grisel Domínguez Arizmendi

Dr. en C. Rómulo García Velasco

Tenancingo, Estado de México

Septiembre de 2022

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1. Importancia de las micorrizas	2
2.1.1. Influencia en las características físicas y químicas del suelo	2
2.1.2. Tolerancia de las plantas a condiciones extremas	3
2.1.3. Estimulación de crecimiento vegetal	3
2.1.4. Inducción de resistencia a fitopatógenos	4
2.1.5. Absorción de nutrientes	5
2.1.6. Condiciones óptimas para el desarrollo de la simbiosis	6
2.2. Tipos de micorrizas	7
2.2.1. Ectomicorrizas	9
2.2.2. Ectendomicorrizas	11
2.2.2.1. Micorriza arbutroide	11
2.2.2.2. Micorriza monotroipoide	12
2.2.3. Endomicorrizas	13
2.2.3.1. Micorriza ericoide	13
2.2.3.2. Micorriza orquideoide	14
2.2.3.3. Micorriza arbuscular	15
2.3. Clasificación taxonómica	17
2.3.1. Diversidad de HMA	19
2.3.2. Micorriza arbuscular en rosa	20

3. JUSTIFICACIÓN	22
4. HIPÓTESIS	23
5. OBJETIVOS	23
5.1. Objetivo general	23
5.1.1. Objetivos particulares	23
6. MATERIALES Y MÉTODOS	24
6.1. Sitios de muestreo	24
6.2. Colecta de muestras de suelo	25
6.3. Extracción de HMA	25
6.4. Determinación de la abundancia de HMA y caracterización morfológica de las esporas	26
6.5. Colecta de material vegetal	28
6.6. Colonización micorrízica	28
6.6.1. Análisis estadístico	29
7. RESULTADOS	31
7.1. Abundancia de HMA	31
7.2. Caracterización morfológica de las esporas	33
7.3. Presencia de micorriza arbuscular en plantas de rosa	36
7.3.1. Micorrización en plantas de Coatepec Harinas	38
7.3.2. Micorrización en plantas de Tenancingo	41
7.3.3. Comparación de la micorrización en plantas de Coatepec Harinas y Tenancingo	43
8. DISCUSIÓN	44
9. CONCLUSIONES	48
10. RECOMENDACIONES	49

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
12. ANEXOS	56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Caracterización de las micorrizas: arbuscular, ectomicorriza, micorriza arbutoide, micorriza monotropoide, micorriza ericoide y micorriza orquideoide; de acuerdo con la colonización celular, estructuras desarrolladas y taxones de hongos y plantas involucrados (Fuente: Smith y Read, 2008).	8
Cuadro 2. Géneros de hongos micorrízicos arbusculares (Fuente: Catalogue of Life, 2021).	18
Cuadro 3. Valor de pH y abundancia de esporas de HMA en 100 cm ³ de suelo cultivado con rosa en los municipios de Coatepec Harinas (CH) y Tenancingo (T), Estado de México.	31
Cuadro 4. Caracterización morfológica de esporas de acuerdo con el color y tamaño en cada sitio de colecta.	34
Cuadro 5. Comparación de medias del porcentaje de colonización micorrízica en raíces de rosa colectadas en cinco sitios de Coatepec Harinas, Estado de México.	39
Cuadro 6. Comparación de medias del porcentaje de colonización micorrízica en raíces de rosa colectadas en cinco sitios de Tenancingo, Estado de México.	41
Cuadro 7. Comparación de medias del porcentaje de colonización micorrízica en plantas de rosa muestreadas en diez sitios de los municipios Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** a) Corte longitudinal de ectomicorriza donde se observa el manto fúngico (m) y la red de Harting (rH). b) Corte transversal que muestra el manto fúngico (m), micelio extra radical (he), red de Harting (rH) y micelio hialino (mh) (Tomado de: Galindo *et al.*, 2015). 9
- Figura 2.** Características de los morfotipos de ectomicorrizas según su ramificación. A) Ausente; B) monopodial pinnada; C) monopodial piramidal; D) dicotómica; E) irregular pinada (Tomado de: Grimaldo *et al.*, 2007). 10
- Figura 3.** Morfotipos desarrollados en raíces secundarias de especies forestales, a consecuencia de la presencia de ectomicorrizas (Tomado de: Deemy, 2022). 10
- Figura 4.** Corte longitudinal de micorriza arbutoide mostrando el manto fúngico rodeando la raíz y colonización intracelular (Tomado de: Smith y Read, 2008). 12
- Figura 5.** Corte histológico de raíces mostrando estructuras típicas de la micorriza monotroipoide. a) Raíz de *Monotropa* sp. (Ericaceae) con desarrollo de red de Harting (H), manto fúngico (M) y crecimiento intracelular (C) (Tomado de: Brundrett, 2008); b) desarrollo de clava 13

fúngica (FP) en *Pterospora* sp.(Ericaceae), mostrando numerosas protuberancias (Tomado de: Smith y Read, 2008).

Figura 6. Corte transversal de micorriza ericoide mostrando células totalmente colonizadas por las hifas del hongo (Tomado de: Smith y Read, 2008). 14

Figura 7. Pelotón formado en raíz de *Paphiopedilum sandermanum*, observado por medio de microscopía confocal láser de barrido (Tomado de: Peterson y Massicotte, 2004). 15

Figura 8. A) Arbúsculos y B) vesículas, presentes en raíces colonizadas por hongos micorrízicos arbusculares (Tomado de: INVAM, 2022). 16

Figura 9. Tipos morfológicos de colonización micorrízica y vesículas (V). A) Tipo arum, B) tipo parís (Tomado de: Peterson *et al.*, 2004). 17

Figura 10. Ubicación de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México; municipios donde se llevó a cabo la colecta de muestras. 24

Figura 11. Colecta de muestras de suelo a partir de la rizósfera de plantas de rosa. 25

- Figura 12.**Proceso de extracción de esporas de HMA. A) Mezcla de 100 g de suelo con agua destilada, B) agitación manual durante 5 minutos, C) tamizado (tamiz superior de 45 mallas, inferior de 500 mallas), D) recuperación de residuos del tamiz de 500 mallas, E) centrifugado a 800 rpm por 5 minutos, F) decantación del líquido, G) mezcla de precipitado con una solución de sacarosa al 60%, H) centrifugado a 600 rpm durante 1 minuto, I) decantado de la de solución azucarada sobre el tamiz 500 mallas, y J) recuperación del sobrenadante. 27
- Figura 13.** Extracción de raíces secundarias de plantas de rosa. 28
- Figura 14.** Proceso de tinción de raíces secundarias de *R. hybrida* para la determinación de la colonización micorrízica. A) Raíces lavadas y secadas, B) clarificación con KOH al 10 %, C) incubación a 90°C durante 60 min, D) raíces sumergidas en tinta azul (Parker Quink®) mantenidas a temperatura durante 30 minutos, E) incubación a 70 °C durante 30 minutos, y F) montaje de preparaciones temporales de fragmentos de raíz. 30
- Figura 15.** Abundancia de esporas de HMA en los sitios de colecta en los municipios de Coatepec Harinas (CH) y Tenancingo (T), Estado de México. 32
- Figura 16.** Clasificación de esporas de acuerdo a su coloración A),B), C) Amarillo, D),E), F), G) Café, H), I) Negro, J), K), L) Blanco. Esp: esporocarpo. Hf: hifa de sostén. 35

- Figura 17.** Esporas de micorrizas arbusculares presentes en raíces de rosa provenientes de los municipios de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México. A-C) esporas extra radicales; D-I) esporas intra radicales. 36
- Figura 18.** Arbúsculos (A,B,C) en raíces de rosa provenientes de los municipios de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México. 37
- Figura 19.** Vesículas (A-F) de micorrizas arbusculares presentes en raíces de rosa provenientes de los municipios de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México. 37
- Figura 20.** Colonización micorrízica, determinada en función de la presencia de arbúsculos, esporas y vesículas, en plantas de rosa muestreadas en cinco sitios del municipio de Coatepec Harinas, Estado de México. 51
- Figura 21.** Colonización micorrízica, determinada en función de la presencia de arbúsculos, esporas y vesículas, en plantas de rosa muestreadas en cinco sitios del municipio de Tenancingo, Estado de México. 53

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Importancia del cultivo de rosa.	56
Anexo 2. Tipos de micorrizas: ectomicorriza, arbuscular, orquideoide, ericoide, arbutoide y monotropoide. Simbología: Ar: arbúsculo; C: enrollamiento hifal; Eh: hifa extra radical; Hn: red de Harting; Fs: manto; P: Protusión; Sc: esclerocio; V: vesícula (Tomado de: Agarwal y Sah, 2009).	59
Anexo 3. Características morfológicas de las esporas de especies de hongos micorrízicos arbusculares (Tomado de: INVAM, 2022).	60
Anexo 4. Microfotografías de esporas de hongos micorrízicos arbusculares, algunas rotas y otras enteras, mostrando distintos colores, paredes y formas. L: lámina (Tomado de: INVAM, 2022).	63
Anexo 5. Arbúsculos desarrollados en raíces de maíz (Tomado de: INVAM, 2022).	64
Anexo 6. Vesículas (A y B) y micelio intra radical (C y D) desarrollados en raíces de maíz (Tomado de: INVAM, 2022).	65
Anexo 7. Esporas de hongos micorrízicos arbusculares desarrollados en raíces de maíz (Tomado de: INVAM, 2022).	66

- Anexo 8.** Constancia de participación en el Sexto Ciclo de Conferencias Sobre la Sustentabilidad en la Floricultura, con la ponencia titulada: Hongos micorrízicos arbusculares asociados al cultivo de *Rosa* sp., en Coatepec Harinas, Estado de México. 67
- Anexo 9.** Constancia de participación en el Séptimo Ciclo de Conferencias Sobre la Sustentabilidad en la Floricultura, con la ponencia titulada: Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares asociados al cultivo de rosa en Coatepec Harinas, Estado de México. 68
- Anexo 10.** Constancia de participación en el Octavo Ciclo de Conferencias Sobre la Sustentabilidad en la Floricultura, con la ponencia titulada: Micorriza arbuscular en el cultivo de rosa. 69

RESUMEN

Las micorrizas arbusculares son asociaciones simbióticas entre hongos micorrízicos arbusculares (HMA) -los cuales pertenecen al phylum Glomeromycota- y las raíces de las plantas. Estas se caracterizan por desarrollar estructuras denominadas arbusculos, vesículas y esporas intra e intercelulares. Derivado de esta asociación, las plantas reciben beneficios, como: incremento en la superficie de absorción de nutrientes (especialmente el fósforo cuando este se encuentra limitado) y agua, resistencia contra fitopatógenos, disminución de estrés causado por factores ambientales, entre otros. En México no existen estudios dirigidos a determinar la abundancia y diversidad de HMA ni la presencia de micorriza arbuscular en *Rosa hybrida*, especie florícola de mayor importancia en los ámbitos nacional e internacional; por lo que se planteó como objetivo: determinar la presencia de micorrizas arbusculares en el cultivo de *Rosa hybrida* cultivada en los municipios de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México. Para determinar la presencia de HMA, se obtuvieron muestras de suelo cultivado con rosa bajo invernadero en Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México (cinco por municipio), posteriormente se realizó la extracción de esporas por medio de la técnica propuesta por Merton *et al.* (1987) con modificaciones; a partir de esto, se determinó la abundancia de HMA y se realizó la caracterización de las esporas por medio del registro de su tamaño y color. La determinación de colonización micorrízica fue realizada a través del método propuesto por Rodríguez *et al.* (2015) con modificaciones, los datos de porcentaje de micorrización se sometieron a un análisis de varianza de una vía y comparación de medias Tukey ($P < 0.05$) con el programa InfoStat, versión 2020e. Como resultados se obtuvo que los HMA estuvieron presentes en todos los sitios de colecta; sin embargo, la mayor abundancia se registró en el municipio de Coatepec Harinas. En cuanto a la caracterización de las esporas, destaca que las más frecuentes en el municipio de Coatepec Harinas fueron las de color café que midieron 40-42 x 40-50 μm , para el caso de Tenancingo de igual manera abundaron las esporas cafés de 20-60 x 20-60 μm . Por otra parte,

en todos los sitios de colecta las plantas estuvieron micorrizadas; se encontraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en los porcentajes de micorrización de ambos municipios, la mayor se encontró en Coatepec Harinas la cual estuvo entre 71.4% - 88.6%, mientras que para Tenancingo entre 51.4% - 85.7%.

1. INTRODUCCIÓN

Las micorrizas son estructuras que se forman en las raíces de las plantas derivado de la interacción mutualista entre hongos y plantas. Brindan diferentes beneficios a las plantas, entre estos: incremento en la superficie de absorción de nutrientes y agua, resistencia contra hongos fitopatógenos, disminución de estrés causado por factores ambientales, entre otros (Pérez 2010). Son clasificadas de acuerdo con el grado de colonización celular como: ectomicorrizas, ectendomicorrizas y endomicorrizas. Dentro de este último tipo se encuentra la micorriza arbuscular (Alarcón, 2014), cuyos hongos asociados (hongos micorrízicos arbusculares, en lo sucesivo HMA) pertenecen al phylum Glomeromycota (Schüßler *et al.*, 2001) distribuidas en 12 familias, 46 géneros y 334 especies (Catalogue of life, 2021).

La principal estructura de reproducción de estos hongos son las esporas, a partir de las cuales en trabajos de investigación se lleva a cabo la caracterización morfológica, tomando en cuenta características representativas, tales como: tamaño, color y forma de las esporas, características de la hifa de sostén, forma y tamaño del arbusculo, entre otras (Orozco *et al.*, 2010).

En México se han desarrollado estudios sobre la diversidad de HMA en diversos cultivos, por ejemplo en maguey en el estado de Oaxaca (López 2006) y cafetales en el estado de Chiapas (Bertolinil *et al.*, 2017); sin embargo, no se han desarrollado este tipo de trabajos en cultivos ornamentales como el rosal. Por lo que se planteó por objetivo: determinar la presencia de micorrizas arbusculares en el cultivo de *Rosa hybrida* cultivada en los municipios de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Importancia de las micorrizas

Las micorrizas son asociaciones simbióticas mutualistas que se establecen entre las raíces de las plantas e hifas de hongos habitantes del suelo. Se clasifican de acuerdo al grado de penetración del hongo en las células corticales de la raíz, las estructuras que desarrollan, así como los hongos y plantas asociadas (Camargo-Ricalde *et al.*, 2012).

Las micorrizas permiten a la planta aumentar la captación de nutrientes (tales como P, Zn, Cu y Mo) y agua, limitan la absorción de metales pesados (como Zn y Cd), mejoran la estructura del suelo mediante el enriquecimiento de materia orgánica estimulando la formación de agregados lo que conduce a mejorar la estructura y estabilidad del suelo (Camarena, 2012; Finlay, 2008). Además, le brindan a la planta protección contra fitopatógenos, debido a la inducción de resistencia; incrementa la capacidad de absorción de agua debido a que existe aumento del área de exploración de la raíz como resultado de la presencia de micelio extra radical (Camargo-Ricalde, 1999). Por otra parte, las hifas que se ramifican en el suelo tienen la capacidad de conectar subterráneamente a las raíces de las plantas de una misma especie o de especies diferentes; además, constituyen una parte importante de la biomasa del suelo representando hasta 50% de la misma (Camargo-Ricalde *et al.*, 2012).

2.1.1. Influencia en las características físicas y químicas del suelo

Autores como Finlay (2008) reportan que el micelio que se desarrolla en el exterior de las raíces tiene la capacidad de mejorar las propiedades físicas y químicas del suelo por el enriquecimiento de materia orgánica y la formación de agregados por

medio de la adhesión de partículas, debida a proteínas exudadas por el micelio, lo que contribuye a dar estructura y estabilidad, lo que en consecuencia reduce la erosión y mejora la capacidad de retención de agua.

2.1.2. Tolerancia de las plantas a condiciones extremas

Las micorrizas brindan tolerancia a las plantas ante déficit hídrico y otras condiciones adversas (Sarabia *et al.*, 2010). De igual manera, inducen resistencia ante la presencia de metales pesados y contaminantes ambientales que son dañinos para las plantas (Ramos *et al.*, sin año). De acuerdo con Camargo-Ricalde (2012), los HMA tienen la capacidad de absorber metales pesados del suelo, tales como el Zn y Cd.

Al respecto, Pérez *et al.* (2019) observaron que el uso de hongos micorrízicos arbusculares en cultivo de cacao redujo la translocación de Cd a la planta, por lo que concluyen que los HMA nativos apoyan en reducir la absorción de este metal hacia la planta. Por otra parte, los HMA tienen la capacidad de brindar agua a las plantas, reduciendo de esta manera el estrés hídrico. El hongo realiza este proceso por medio de su micelio, facilitando a la planta la absorción y transporte de agua; de este modo, se aprovecha el agua en plantas que se encuentran bajo condiciones de estrés hídrico o sequía (Nazareno *et al.*, 2020).

2.1.3. Estimulación de crecimiento vegetal

A partir de la simbiosis micorrízica se presenta mayor crecimiento de las plantas debido a la estimulación radicular y la absorción de nutrientes (Sarabia *et al.*, 2010). Las plantas presentan mayor área de exploración de la raíz debido a la presencia de micelio extraradical y mayor cantidad de pelos absorbentes, los cuales en conjunto sirven como una extensión de la raíz que incrementa la absorción de

nutrientes y agua (Camargo-Ricalde *et al.*, 2012). Estos microorganismos presentan diferentes propiedades para estimular el crecimiento vegetal; sin embargo, hasta el momento no se tiene información sobre los mecanismos de acción que lo promueven (Nazareno *et al.*, 2020). No obstante, existe evidencia de esta estimulación; en este sentido, algunos autores como Díaz-Franco *et al.* (2013) realizaron un experimento en pimiento bajo condiciones de invernadero, en el cual se registró incrementó en el crecimiento. Además, los autores reportan aumento del peso de los frutos en un 30%, en comparación a las plantas no micorrizadas.

2.1.4. Inducción de resistencia a fitopatógenos

Ramos *et al.* (sin año) mencionan que otra función importante de las micorrizas es la inducción de resistencia ante infecciones causadas por microorganismos patógenos. Las plantas presentan diferentes respuestas de defensa frente al ataque de organismos patógenos, dentro de estas respuestas bioquímicas y fisiológicas se encuentra la producción de metabolitos antifúngicos, fitoalexinas, deposición de lignina; cuya función es reducir o evitar el ataque (Nazareno *et al.*, 2020).

En este sentido, se ha demostrado la inducción de resistencia en diferentes cultivos frente a hongos, oomicetos y bacterias. Al respecto, Carreón *et al.* (2008) reportan que especies del género *Glomus* tienen efectos sobre *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *P. capsici*, *P. parasitica* y algunas bacterias del género *Pseudomonas*. Por su parte, Reyes *et al.* (2016) demostraron que plantas de *Capsicum annum* L. inoculadas con HMA presentaron resistencia frente a *P. capsici*, esto fue evidente por la reducción de la severidad de la marchitez, en comparación con las plantas no inoculadas con HMA.

2.1.5. Absorción de nutrientes

La absorción de nutrientes se ve influenciada por la presencia de micelio extraradical y la cantidad de pelos absorbentes, los cuales en conjunto sirven como una extensión que incrementa la absorción de nutrientes y agua. Entre los nutrimentos de mayor relevancia se encuentran el P, Zn, Cu y Mo que son elementos de movilidad lenta (Alarcón, 2014). Derivado de este proceso, las plantas presentan mayor crecimiento vegetativo. Es importante mencionar que en algunas especies de plantas la simbiosis micorrízica se considera obligada, tal es el caso de la yuca (*Manihot esculenta*), puerro (*Allium ampeloprasum*) y algunas leguminosas tropicales (Blancol *et al.*, 1997). Cabe señalar que los ácidos orgánicos tienen la capacidad de influir en la solubilidad de elementos que pueden ser esenciales o no para las plantas (Marschner 1995).

Hernandez-Acosta *et al.*, (2018) observaron resultados significativos con la inoculación de hongos micorrizicos en el cultivo café (*Coffea arabica* L.) variedades garnica, catimor, caturra y catuaí, los tratamientos evaluados fueron: 1) consorcio Zac-19 (*Paraglomus albidum*, *Rhizophagus diaphanus*, *G. claroides*, *G. diaphanu*) y 2) *R. aggregatus*. Dentro de los resultados obtuvieron, que en comparación del testigo se incrementó la altura de las plantas, el área foliar, el volumen radical y el peso seco, siendo el inoculo más eficiente Zac-19, adicionalmente, estimaron que el efecto de la inoculación fue dependiente de las variedades de café evaluadas.

2.1.6. Condiciones óptimas para el desarrollo de la simbiosis

El establecimiento de la simbiosis entre hongos micorrízicos y las plantas está influenciada por diversas condiciones, entre estas: el pH, la humedad y la disponibilidad de nutrientes. Estos factores interfieren en la reacción de la planta y los hongos micorrízicos, dependiendo la especie involucrada. Se reporta que *Acaulospora morrowiae* y *A. scrobiculata* se encuentran presentes en un intervalo de pH entre 3.8 y 8.0; mientras que algunas otras especies como *Glomus* spp. se desarrollan en cualquier tipo de suelo (Barrer 2009).

El pH del suelo interfiere en el número de esporas presentes, debido a una saturación de aluminio que se genera al modificar los intervalos del mismo. Por otro lado, la cantidad de fosfatos de hierro y aluminio formados en suelos extremadamente ácidos afectan la esporulación de los HMA (Barrer 2009). Pérez *et al.*, (2010) destacan como un aspecto importante para la colonización, la cantidad de nutrientes en el suelo, ya que a elevadas concentraciones de Mg, Ca y K el porcentaje de colonización es menor. Adicionalmente reportan que la mayor colonización micorrízica también estuvo influenciada por la CIC y el contenido de materia orgánica, de tal forma que la mayor micorrización se presentó en aquellos suelos en donde se tenía un alto valor de capacidad de intercambio catiónico (CIC) y alto contenido de materia orgánica.

2.2. Tipos de micorrizas

La clasificación de las micorrizas se realiza con base en las características de sus estructuras (manto fúngico, red de Harting, arbusculos, etc.), el grupo taxonómico del hongo, la planta con la que se asocian y por último el grado de penetración en la célula (inter o intracelular) (Torres, 2010); de acuerdo con lo anterior se clasifican como: ectomicorrizas, ectendomicorrizas y endomicorrizas.

Dentro de las ectendomicorrizas, se encuentran la arbutoide y monotrofoide, las cuales presentan un crecimiento inter e intracelular. Las endomicorrizas, incluyen la ericoide, orquideoide y arbuscular, que son reconocidas por presentar colonización de forma intracelular. Por su parte, las ectomicorrizas son caracterizadas por presentar un crecimiento intercelular (Cuadro 1) (Torres, 2010; Smith y Read, 2008).

Cuadro 1. Caracterización de las micorrizas: arbuscular, ectomicorriza, micorriza arbutoide, micorriza monotropoide, micorriza ericoide y micorriza orquideoide; de acuerdo con la colonización celular, estructuras desarrolladas y taxones de hongos y plantas involucrados (Fuente: Smith y Read, 2008).

Tipo de micorriza	Características					
	Colonización intracelular	Manto fúngico	Red de Harting	Taxones de hongos	Taxones de plantas	Plantas aclorófilas
Micorriza arbutoide	+	- / +	+	Basidiomycota	Ericales	-
Micorriza monotropoide	+	+	+	Basidiomycota	Monotropaceae	+
Ectomicorriza	-	+	+	Basidiomycota, Ascomycota	Gimnospermas y Angiospermas	-
Micorriza arbuscular	+	-	-	Glomeromycota	Briofitas, Pteridofitas, Gimnospermas y Angiospermas	-
Micorriza ericoide	+	-	-	Ascomycota	Ericales y Briofitas	-
Micorriza orquideoide	+	-	-	Basidiomycota	Orchidaceae	+

+ Se presenta. – No se presenta.

2.2.1. Ectomicorrizas

Las ectomicorrizas se asocian principalmente con árboles forestales. En la interacción, las hifas del hongo penetran intercelularmente al córtex de las raíces secundarias para desarrollarse dentro de estas. La micorriza se caracteriza por formar la denominada red de Harting, cuya función es el intercambio de nutrientes y agua entre el hongo y la planta; además, al exterior de la raíz se presenta un conjunto de hifas que constituye el cuerpo del hongo, el cual se denomina manto fúngico (Figura 1). Derivado de la interacción se forman morfotipos, que se consideran las estructuras típicas de las raíces ectomicorrizadas (Figuras 2 y 3) (Torres, 2010).

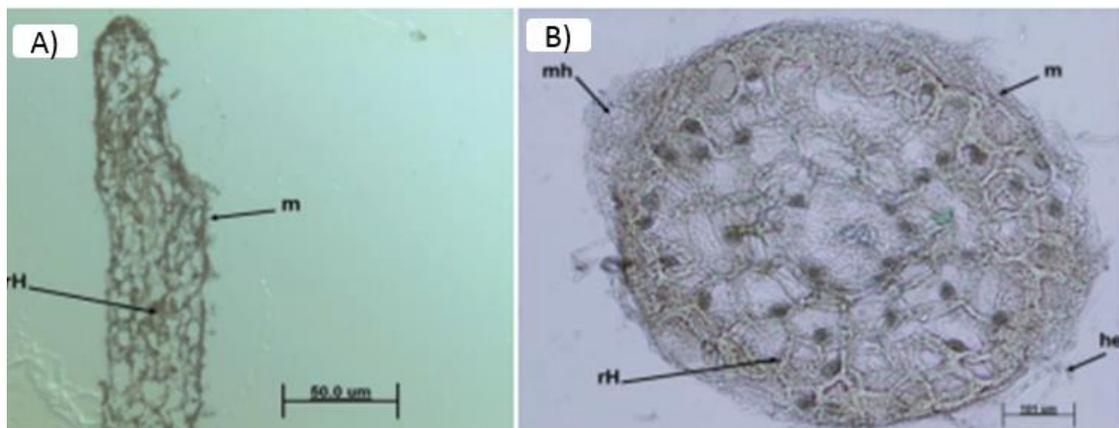


Figura 1. a) Corte longitudinal de ectomicorriza donde se observa el manto fúngico (m) y la red de Harting (rH). b) Corte transversal que muestra el manto fúngico (m), micelio extra radical (he), red de Harting (rH) y micelio hialino (mh) (Tomado de: Galindo *et al.*, 2015).

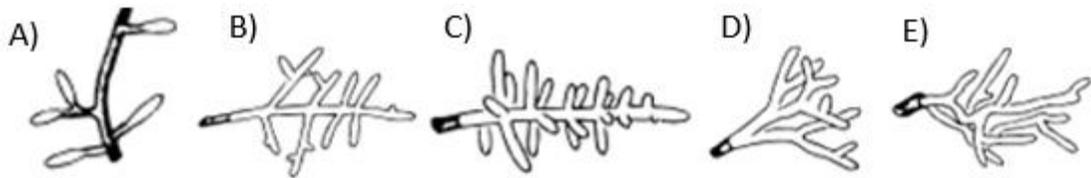


Figura 2. Características de los morfotipos de ectomicorrizas según su ramificación. A) Ausente; B) monopodial pinnada; C) monopodial piramidal; D) dicotómica; E) irregular pinada (Tomado de: Grimaldo *et al.*, 2007).



Figura 3. Morfotipos desarrollados en raíces secundarias de especies forestales, a consecuencia de la presencia de ectomicorrizas (Tomado de: Deemy, 2022).

Camargo-Ricalde (1999) menciona que este tipo de hongos se desarrollan alrededor de las raíces, penetran envolviendo las células corticales en el espacio intercelular. El principal phylum al que pertenecen este tipo de hongos es el Basidiomycota; entre las especies de plantas involucradas se encuentran las pertenecientes a las familias Pinaceae, Fagaceae y Betulaceae.

2.2.2. Ectendomicorrizas

Torres (2010) menciona que las ectendomicorrizas son similares a las ectomicorrizas debido a la presencia de la red de Harting y el manto fúngico; aunque este último solo se forma en ocasiones. A diferencia de las ectomicorrizas, las ectendomicorrizas presentan cierto grado de penetración celular, de tal forma que desarrollan crecimiento inter e intracelular, característica por la cual se atribuye el nombre de “ectendomicorriza”. Los hongos asociados pertenecen a los phylum Basidiomycota, Ascomycota, que establecen la simbiosis con diversas especies de plantas, entre estas algunas plantas del género *Pinus*. Dentro de este tipo de micorrizas se encuentra la arbutroide y la monotroipoide (Smith y Read, 2008).

2.2.2.1. Micorriza arbutroide

La micorriza arbutroide se caracteriza por la penetración del hongo en las células de la raíz formando la conocida red de Harting, se encuentran presentes en plantas de los géneros *Arctostaphylos*, *Arbutus* y *Pyrola* (Torres 2010); los hongos asociados pertenecen al phylum Basidiomycota (Alarcón, 2014; Torres, 2010; Smith y Read, 2008) (Figura 4).

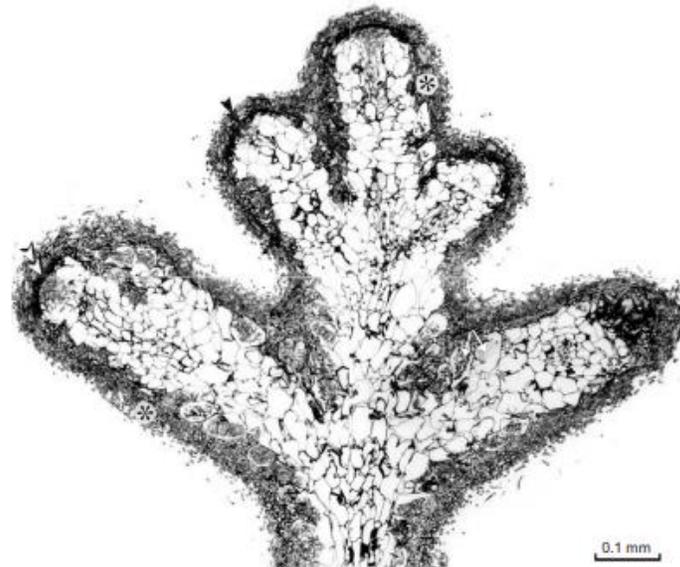


Figura 4. Corte longitudinal de micorriza arbutoide mostrando el manto fúngico rodeando la raíz y colonización intracelular (Tomado de: Smith y Read, 2008).

2.2.2.2. Micorriza monotroipoide

La micorriza monotroipoide se encuentra presente en plantas de la familia Monotropaceae, las cuales carecen de clorofila. Los hongos asociados pertenecen al phylum Basidiomycota, principalmente de los géneros *Lactarius*, *Russula*, *Suillus* y *Rhizopogon* (Torres 2010). Derivado de la micorrización se desarrollan estructuras similares a las desarrolladas en las ectomicorrizas y micorrizas arbutoides (formación de manto fúngico y red de Harting); además, se forman estructuras especializadas llamadas clavos fúngicos (Alarcón, 2014) (Figura 5).

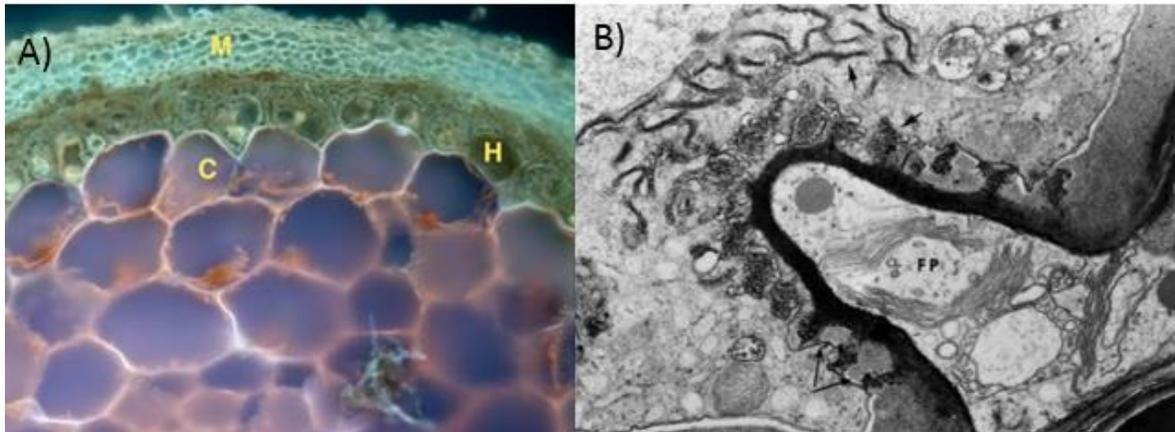


Figura 5. Corte histológico de raíces mostrando estructuras típicas de la micorriza monotrofoide. a) Raíz de *Monotropa* sp. (Ericaceae) con desarrollo de red de Harting (H), manto fúngico (M) y crecimiento intracelular (C) (Tomado de: Brundrett, 2008); b) desarrollo de clava fúngica (FP) en *Pterospora* sp.(Ericaceae), mostrando numerosas protuberancias (Tomado de: Smith y Read, 2008).

2.2.3. Endomicorrizas

Dentro de la endomicorrizas se encuentran las micorrizas: ericoide, orquideoide y arbuscular. No forman red de Harting ni manto fúngico; las hifas penetran a la raíz introduciéndose a las células (rompen la membrana celular y penetran al interior o sólo empujan la membrana y se ramifican), dentro de las cuales forman sus estructuras (Torres, 2010).

2.2.3.1. Micorriza ericoide

Torres (2010) reporta que la micorriza ericoide se caracteriza por penetrar a las células de la raíz (crecimiento intracelular) (Figura 6). Colonizan plantas de la familia Ericaceae, los hongos involucrados en este tipo de micorrizas pertenecen al phylum de los Ascomycota. Esta asociación mutualista es fundamental para transportar los

nutrientes a las plantas, ya que algunas de las Ericaceas suelen habitar en suelos donde los nutrientes se encuentran de forma orgánica; de igual forma, dentro de esta simbiosis se solubilizan metales a partir de compuestos inorgánicos que presentan una insolubilidad tales metales pueden ser el ZnO (Alarcón, 2014)



Figura 6. Corte transversal de micorriza ericoide mostrando células totalmente colonizadas por las hifas del hongo (Tomado de: Smith y Read, 2008).

2.2.3.2. Micorriza orquideoide

Las plantas de la familia Orchidaceae en las primeras etapas de desarrollo son parcialmente aclorofilas, lo que las hace dependientes a hongos que propician la formación de la micorriza. En algunos casos las semillas de orquídeas requieren de la presencia de estos hongos (pertenecientes al phylum Basidiomycota) para que se puedan desarrollar los procesos de germinación de la misma y pueda

completarse el proceso de desarrollo de la planta. Aun así, la probabilidad de que las semillas de orquídea germinen es baja a pesar de estar en contacto con la micorriza (Alarcón, 2014).

La micorriza orquideoide se caracteriza por penetrar en las células corticales de la raíz, produce espirales intercelulares conocidos comúnmente como pelotones en los embriones de las plántulas que se encuentran en desarrollo y en las raíces de plantas adultas (Figura 7) (Smith y Read, 2008).

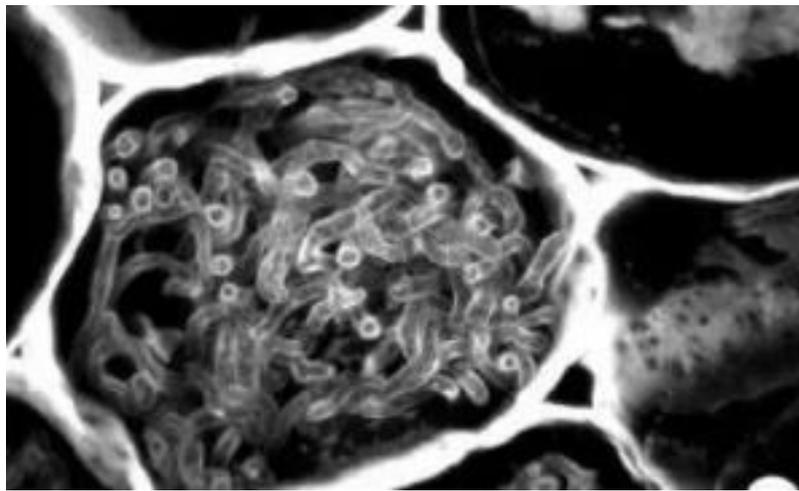


Figura 7. Pelotón formado en raíz de *Paphiopedilum sanderianum*, observado por medio de microscopía confocal láser de barrido (Tomado de: Peterson y Massicotte, 2004).

2.2.3.3. Micorriza arbuscular

Son conocidas como vesículo arbusculares u hongos micorrízicos arbusculares; el nombre “arbuscular” es debido a la formación de estructuras típicas llamadas arbusculos (Smith y Read 2008). Se estima que más del 90 % de las plantas terrestres establecen relaciones simbióticas con hongos micorrízicos arbusculares

(HMA). Estos hongos, se caracterizan por desarrollar micelio intra e intercelular; además de formar vesículas y arbuscúlos (Figura 8) (Pérez *et al.*, 2010). Se considera a esta asociación como un complemento de la raíz de la planta para poder tomar los nutrientes del suelo, dentro de los cuales el elemento más relevante el P, en sus formas disponibles para la planta que son fosfato monobásico y fosfato dibásico (Barrer, 2009).

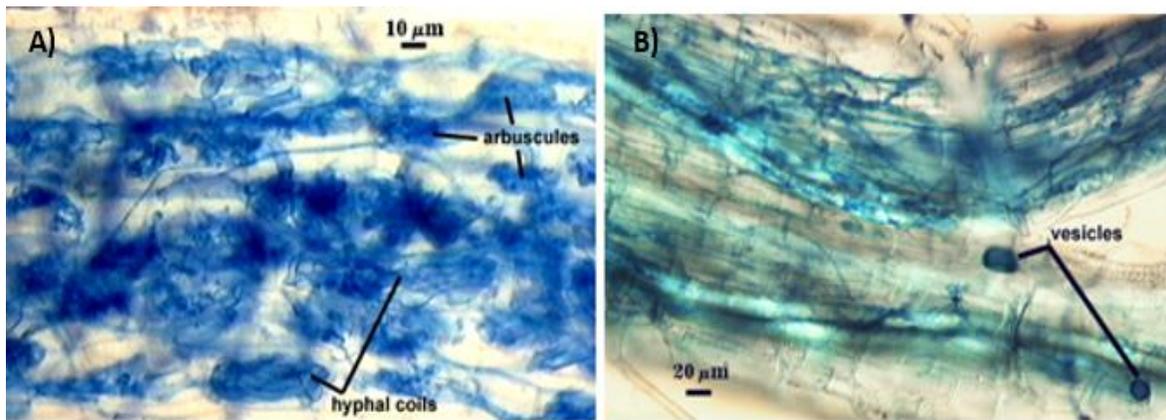


Figura 8. A) Arbúsculos y B) vesículas, presentes en raíces colonizadas por hongos micorrízicos arbusculares (Tomado de: INVAM, 2022).

Los arbúsculos son hifas que se encuentran ramificadas y presentan periodos de vida cortos; su principal función es el intercambio de nutrientes y agua entre el hongo y la planta. Por su parte, las vesículas son estructuras de almacenamiento que se forman en la parte terminal de las hifas, los HMA pueden encontrarse en diferentes tipos de suelos, la presencia de estos puede ser nula o baja en suelos erosionados (Barrer, 2009). Existen dos tipos morfológicos de colonización micorrízica arbuscular (Figura 9) (Smith y Read, 2008; Peterson *et al.*, 2004):

- 1) Tipo arum: las hifas se desarrollan de forma intercelular presentando crecimiento de micelio interno, los arbúsculos de este tipo suelen tener una

vida relativamente corta formándose al final de las hifas (Smith y Read, 2008).

- 2) Tipo parís: que es caracterizado por presentar desarrollo intracelular en forma de enrollamiento antes de la formación de las ramas arbusculadas (Smith y Read, 2008).

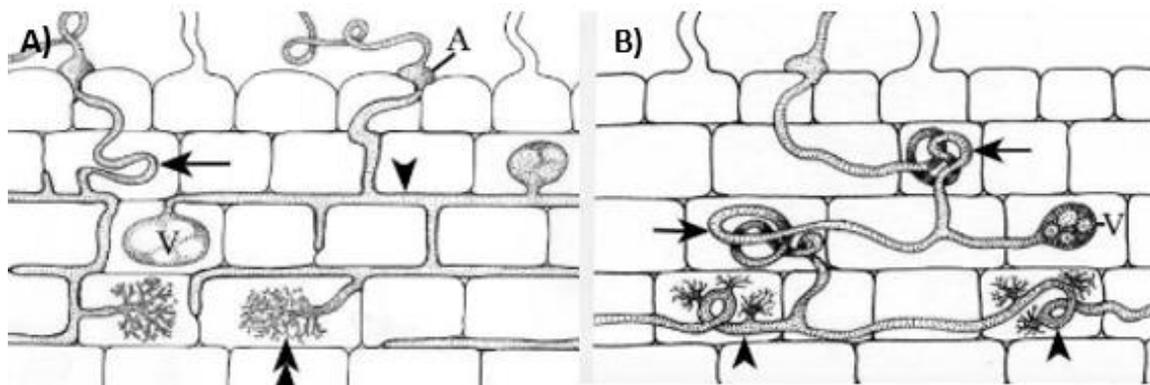


Figura 9. Tipos morfológicos de colonización micorrízica y vesículas (V). A) Tipo arum, B) tipo parís (Tomado de: Peterson *et al.*, 2004).

2.3. Clasificación taxonómica

Los HMA pertenecen al phylum Glomeromycota. Este phylum se caracteriza por presentar micelio cenocítico y por carecer de reproducción sexual (Schüßler 2001). De acuerdo con Catalogue of Life (2021) consta de 334 especies agrupadas en una clase, cuatro órdenes, 12 familias, 46 géneros (Cuadro 2).

Cuadro 2. Géneros de hongos micorrízicos arbusculares (Fuente: Catalogue of Life, 2021).

Número	Género	Número	Género
1	<i>Acaulospora</i>	24	<i>Sieverdingia</i>
2	<i>Entrophospora</i>	25	<i>Funneliformis</i>
3	<i>Kuklospora</i>	26	<i>Funneliglomus</i>
4	<i>Tricispora</i>	27	<i>Sclerocarpum</i>
5	<i>Sacculospora</i>	28	<i>Glomus</i>
6	<i>Ambispora</i>	29	<i>Rhizogloму</i>
7	<i>Archaeospora</i>	30	<i>Rizofago</i>
8	<i>Claroideoglomus</i>	31	<i>Kamienskia</i>
9	<i>Corymbiglomus</i>	32	<i>Microkamienskia</i>
10	<i>Desertispora</i>	33	<i>Oehlia</i>
11	<i>Intraornatospora</i>	34	<i>Esclerocistitis</i>
12	<i>Otopora</i>	35	<i>Pervetustus</i>
13	<i>Redeckera</i>	36	<i>Pacispora</i>
14	<i>Geosifon</i>	37	<i>Innospora</i>
15	<i>Cetraspora</i>	38	<i>Paraglomus</i>
16	<i>Scutellospora</i>	39	<i>Bulbospora</i>
17	<i>Dentiscutata</i>	40	<i>Glomorphites</i>
18	<i>Diversispora</i>	41	<i>Helmutella</i>
19	<i>Fuscutata</i>	42	<i>Kryphiomyces</i>
20	<i>Gigaspora</i>	43	<i>Palaeogigaspora</i>
21	<i>Racocetra</i>	44	<i>Zwergimyces</i>
22	<i>Dominikia</i>	45	<i>Palaeoglomus</i>
23	<i>Septoglomus</i>	46	<i>Paradentiscutata</i>

2.3.1. Diversidad de HMA

Los HMA se encuentran distribuidos de manera natural tanto en suelos no perturbados, como en los cultivados; esto se evidencia a partir de estudios desarrollados por diversos autores. Por ejemplo, en un estudio realizado en el pasto *Bothriochloa pertusa* (L.) A. Camus, se reporta la presencia en las raíces de estructuras micorrízicas, entre estas vesículas, esporas, micelio y arbuscúlos (Pérez, 2010).

En un estudio desarrollado en Argentina por Albornoz *et al.* (2014) se demostró que las especies *Duchesnea indica* (fresa india), *Fragaria vesca* L (fresa) y *Potentilla tucumanensis* A., presentaron colonización por micorrizas arbusculares. Adicionalmente, los autores reportan la observación de los dos tipos morfológicos de colonización tipo arum y paris, siendo el más frecuente tipo paris en *F. vesca*. Además, se obtuvieron diferentes porcentajes de colonización (arbuscular e hifal) dependiendo del sitio y la estación donde se realizó el muestreo. Los autores destacan que el contenido de P presente en el suelo es una condición por medio de la cual una especie vegetal va a depender de la asociación de HMA (Albornoz *et al.*, 2014).

En México se han desarrollado pocos estudios enfocados en la diversidad de hongos micorrizicos arbusculares. De manera general, estos se han centrado en cultivos como maguey (*Agave angustifolia*) en el estado de Oaxaca, donde se observó la presencia de algunos géneros pertenecientes a las familias Acaulosporaceae, Glomaceae y Diversisporaceae (López, 2006). Por otro lado, en el cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Tabasco, se encontraron en promedio 943 esporas de HMA en 100 g de suelo analizado siendo las especies más frecuentes *Glomus* y *Acaulospora* (Salgado *et al.*, 2014). En otro estudio desarrollado en Michoacán en aguacate (*Persea americana*) cultivado bajo

un sistema orgánico y convencional, Carreón *et al.* (2013) reportan mayor riqueza de especies en el sistema orgánico, donde se encontró a las especies: *Glomus* spp., *Funneliformis geosporus*, *Rhizophagus* spp., *Acaulospora* spp., *Pacispora* spp. y *Sclerocystis rubiformis*, en comparación con el manejo convencional donde se identificó a *Glomus* spp., *F. geosporus* y *S. rubiformis*.

2.3.2. Micorriza arbuscular en rosa

Con base en la revisión bibliográfica, es evidente que en México no existen estudios dirigidos a determinar la diversidad y abundancia de HMA en cultivos ornamentales, ni de manera particular en el cultivo de rosal, especie florícola de mayor importancia en los ámbitos nacional e internacional (Anexo 1). No obstante, existen estudios en EEUU, Ecuador y España que evidencian la importancia de estos organismos en el cultivo de rosa. En un estudio realizado por Davies *et al.* (1987), citado por González-Chávez y Ferrera-Cerrato (1994), se encontró que el portainjerto *R. multiflora* Brooks 56, cultivado en Texas, EEUU, estuvo naturalmente colonizado por *Glomus* spp. y *Gigaspora* spp. en campos de producción comercial.

Por su parte, De la cadena Vera (2005) en Ecuador, estableció un experimento utilizando plantas de rosas tipo spray, variedad Porcelina, patrón Indica. Para el cual utilizó el producto comercial Mycoral® (compuesto por los géneros *Acaulospora*, *Glomus*, *Gigaspora* y *Archaespora*) en 4 tratamientos: T1: sin Mycoral® + 100 % de Fertilización (140 cc de nitrato de amonio, nitrato de potasio 500g, sulfato de magnesio 1860 g, kelader de cobre 70 cc, ácido bórico 2 g, molibdato de amonio 0.3 g, kelader de manganeso 160cc, fosfato mono amónico 110g, kelader de zinc 20 cc y hierro 60 cc y nitrato de calcio 860 g); T2: sin Mycoral® + 50 % de fertilización (correspondiente al 50 % de los nutrientes indicados en el T1); T3: inoculación con Mycoral® + 50 % fertilización; y T4: inoculación con Mycoral® + 100 % fertilización. Entre los resultados, el autor reporta mayor crecimiento de tallos con el tratamiento

que presentaba inoculación ya que el producto comercial permitió obtener mejor asimilación de nutrientes al establecer simbiosis con las raíces presentando un mayor crecimiento de tallos después de la poda. Dentro del análisis de micorrizas encontró la presencia de micorrizas en todos los tratamientos aun en los no inoculados con el producto comercial siendo posiblemente micorrizas nativas.

Por su parte, Garmendia *et al.* (2008) en España, realizaron un estudio en plantas de rosa cv. Grand Gala bajo condiciones controladas en invernadero, las cuales previamente fueron tratadas con 10 mL del producto comercial Aegis® (SYTEN S.L.), que contiene *G. intraradices* y *G. mosseae*, además se realizó una evaluación de análisis mineral de las hojas y niveles de almidón y azúcares solubles totales (AST) en hoja y raíz. Obteniendo como resultado un porcentaje de micorrización no mayor al 10 % en la extensión radicular, la inoculación del hongo no generó cambios significativos en la biomasa vegetal de la planta; sin embargo, se obtuvo un ligero aumento en la misma y en la concentración en hoja de P, K y Fe. En cuanto a la concentración de almidón únicamente se indujo un incremento a nivel de la zona radicular.

3. JUSTIFICACIÓN

Las micorrizas arbusculares tienen varios beneficios para la agricultura: las plantas presentan mayor absorción de nutrimentos y agua, resistencia contra patógenos, estimulan el crecimiento vegetal, se incrementa el sistema radicular y mejora la tolerancia al déficit hídrico. En México, existen diversas investigaciones sobre la diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en diversos cultivos, tales como maguey (*Agave angustifolia*) en el estado de Oaxaca, Maíz (*Zea mays*) en el estado de Chiapas, calabaza (*Cucurbita pepo*) en el estado de Veracruz y aguacate (*Persea americana*) en Michoacán. No obstante, con base en la revisión bibliográfica, es evidente que en nuestro país son inexistentes los estudios dirigidos a determinar la diversidad y abundancia de hongos micorrízicos arbusculares, así como la presencia de micorriza arbuscular en cultivos ornamentales, de manera particular en el cultivo de rosal, especie florícola de mayor importancia ámbitos nacional e internacional (Anexo 1). Por lo que se planteó por objetivo: determinar la presencia de micorrizas arbusculares en el cultivo de *Rosa hybrida* cultivada en los municipios de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México.

4. HIPÓTESIS

Los hongos micorrízicos arbusculares son organismos cosmopolitas, por lo que se encontrarán presentes en suelos cultivados con *Rosa hybrida* en la zona florícola del Estado de México.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Determinar la presencia de micorrizas arbusculares en el cultivo de *Rosa hybrida* cultivada en los municipios de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México.

5.1.1. Objetivos particulares

- I. Determinar la presencia y abundancia de hongos micorrízicos arbusculares asociados al cultivo de *Rosa hybrida* en los municipios de Coatepec Harinas, y Tenancingo.
- II. Caracterizar morfológicamente las esporas de hongos micorrízicos arbusculares asociados al cultivo de *Rosa hybrida* en los municipios de Coatepec Harinas, y Tenancingo.
- III. Determinar la presencia de micorriza arbuscular en plantas de *Rosa hybrida*.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en los Laboratorios de Docencia y de Fitopatología del Centro Universitario Tenancingo, de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), ubicado en la carretera Tenancingo-Villa Guerrero Km.1.5, C.P 52400, Tenancingo, Estado de México, México.

6.1. Sitios de muestreo

Se obtuvieron muestras de suelo y material vegetal a partir de 10 sitios cultivados con rosa en los municipios de Coatepec Harinas y Tenancingo (cinco sitios por municipio) (Figura 10).



Figura 10. Ubicación de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México; municipios donde se llevó a cabo la colecta de muestras.

6.2. Colecta de muestras de suelo

Por municipio se seleccionaron cinco invernaderos de rosa, cuyo portainjerto correspondió a Natal Briar. Cabe señalar que en todos los casos se encontró cultivada bajo un sistema de producción convencional y sin antecedentes de aplicación de productos comerciales de HMA. De cada uno de estos sitios, se obtuvo una muestra de suelo, para lo cual se seleccionaron al azar cinco plantas de rosa, y de la rizosfera se colectaron aproximadamente 200 g de suelo que fueron colocados en una bolsa de polietileno (Figura 11). Las cinco submuestras se mezclaron para obtener una sola muestra por sitio, se determinó el pH y mantuvieron en refrigeración a 4° C hasta su procesamiento.



Figura 11. Colecta de muestras de suelo a partir de la rizósfera de plantas de rosa.

6.3. Extracción de HMA

La extracción de hongos micorrízicos se realizó a partir de la técnica propuesta por Merton *et al.* (1987), con modificaciones. Para lo cual se colocaron 100 cm³ de suelo en un vaso de precipitado y se aforó a 800 mL con agua destilada; la mezcla se

mantuvo en agitación manual durante 3 min y se dejó sedimentar durante 1 min. Transcurrido este tiempo, la suspensión se decantó sobre dos tamices empotrados entre sí, uno de 45 mallas y el otro de 500 mallas; el tamiz de 45 mallas se lavó sobre el de 500 mallas, posteriormente con el apoyo de una pizeta se recuperó el suelo del tamiz de malla de 500 y se colocó en un vaso de precipitado de 150 mL. La suspensión se transfirió a tubos Falcon® de 50 mL y se centrifugó (centrífuga marca SORVALL®) a 800 rpm durante 5 minutos (Figura 12).

El sobrenadante fue desechado cuidadosamente evitando perturbar al precipitado; posteriormente, este se mezcló con una solución de sacarosa (454 g L⁻¹ de agua) y se agitó manualmente, enseguida se centrifugó a 600 rpm durante 60 segundos. Después de esto, la solución fue decantada en un tamiz de 500 mallas, teniendo la precaución de no perturbar el precipitado (Figura 12). El material recuperado se etiquetó y almacenó en refrigeración a 4°C hasta su análisis.

6.4. Determinación de la abundancia de HMA y caracterización morfológica de las esporas

Con la finalidad de determinar la abundancia de HMA en cada sitio de colecta, la solución obtenida a partir de la extracción se observó bajo microscopio estereoscópico (Carl Zeiss®) y se registró la cantidad de esporas presentes.

Por otro lado, la caracterización de las esporas de los HMA se realizó bajo microscopio compuesto (Carl Zeiss®) haciendo uso de los objetivos de 10x y 40x, para lo cual se tomó una muestra de la solución obtenida, y se colocó en una caja de Petri para su observación. Las características registradas fueron: tamaño y color de las esporas; cabe señalar que esto se realizó tomando como referencia la información contenida en la base de datos del International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, 2022).

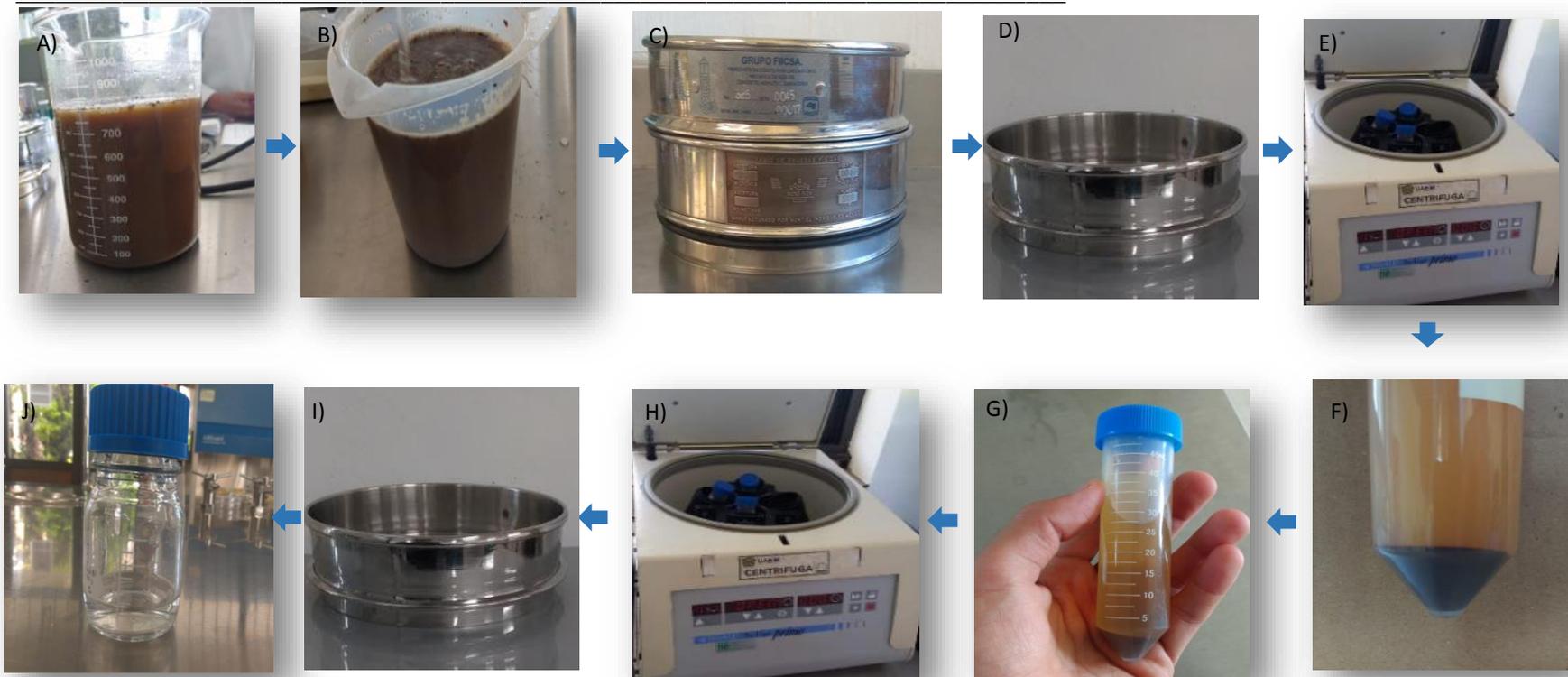


Figura 12.Proceso de extracción de esporas de HMA. A) Mezcla de 100 g de suelo con agua destilada, B) agitación manual durante 5 minutos, C) tamizado (tamiz superior de 45 mallas, inferior de 500 mallas), D) recuperación de residuos del tamiz de 500 mallas, E) centrifugado a 800 rpm por 5 minutos, F) decantación del líquido, G) mezcla de precipitado con una solución de sacarosa al 60%, H) centrifugado a 600 rpm durante 1 minuto, I) decantado de la de solución azucarada sobre el tamiz 500 mallas, y J) recuperación del sobrenadante.

6.5. Colecta de material vegetal

Se extrajeron raíces secundarias de las plantas a partir de las cuales se obtuvieron las muestras de suelo (cinco plantas por sitio) (Figura 13); esto con la finalidad de determinar la presencia de micorrizas. Las muestras se mantuvieron en bolsas de polietileno bajo refrigeración a 4 ° C hasta su análisis.



Figura 13. Extracción de raíces secundarias de plantas de rosa.

6.6. Colonización micorrízica

Para llevar a cabo la determinación de colonización micorrízica de cada una de las plantas colectadas, las raíces fueron teñidas a través del método propuesto por Rodríguez *et al.* (2015) con modificaciones, según lo descrito a continuación:

Se realizó un lavado de las raíces con agua potable, esto con la finalidad de retirar el suelo adherido; enseguida se colocaron en una estufa de secado (Felisa®) a 70 °C y a partir del día 10 fueron pesadas diariamente con una balanza analítica (Boeco®), una vez que se obtuvo peso constante se llevó a cabo un proceso de

clarificación con hidróxido de potasio al 10 % (m/v), para esto las raíces se introdujeron en tubos Eppendorf® de 2 mL con dicho reactivo y se colocaron dentro de una estufa de secado a 90 °C durante 60 min. Transcurrido este tiempo, la solución fue retirada y las raíces se lavaron con abundante agua potable.

Las raíces clarificadas se sumergieron en tubos Eppendorf® de 2 mL que contenían tinta azul (Parker Quink®), se dejaron reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente; después, fueron incubadas en una estufa de secado durante 30 minutos a 70 °C, se extrajeron y enjuagaron con abundante agua potable.

Una vez teñidas las raíces, por cada planta se seleccionaron al azar siete segmentos de aproximadamente 1 cm de longitud, los cuales se colocaron en portaobjetos para su observación y registro de la presencia de arbusculos, vesículas, esporas intra y extra radicales. A partir de esta información se determinó el porcentaje de colonización micorrízica por planta a través de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ CM} = \frac{\text{SC} \times 100}{7}$$

Donde:

% CM: porcentaje de colonización micorrízica

SC: número de segmentos colonizados

6.6.1. Análisis estadístico

De manera independiente se analizaron las cinco plantas de cada sitio de colecta, y de cada uno de estos se consideró como unidad de análisis siete segmentos de raíz. Se realizaron análisis estadísticos para comparar el porcentaje de micorrización por municipio y entre estos; para lo cual, los datos se sometieron a un análisis de varianza de una vía ($P < 0.05$) y comparación de medias Tukey ($P < 0.05$) con el programa InfoStat, versión 2020e.

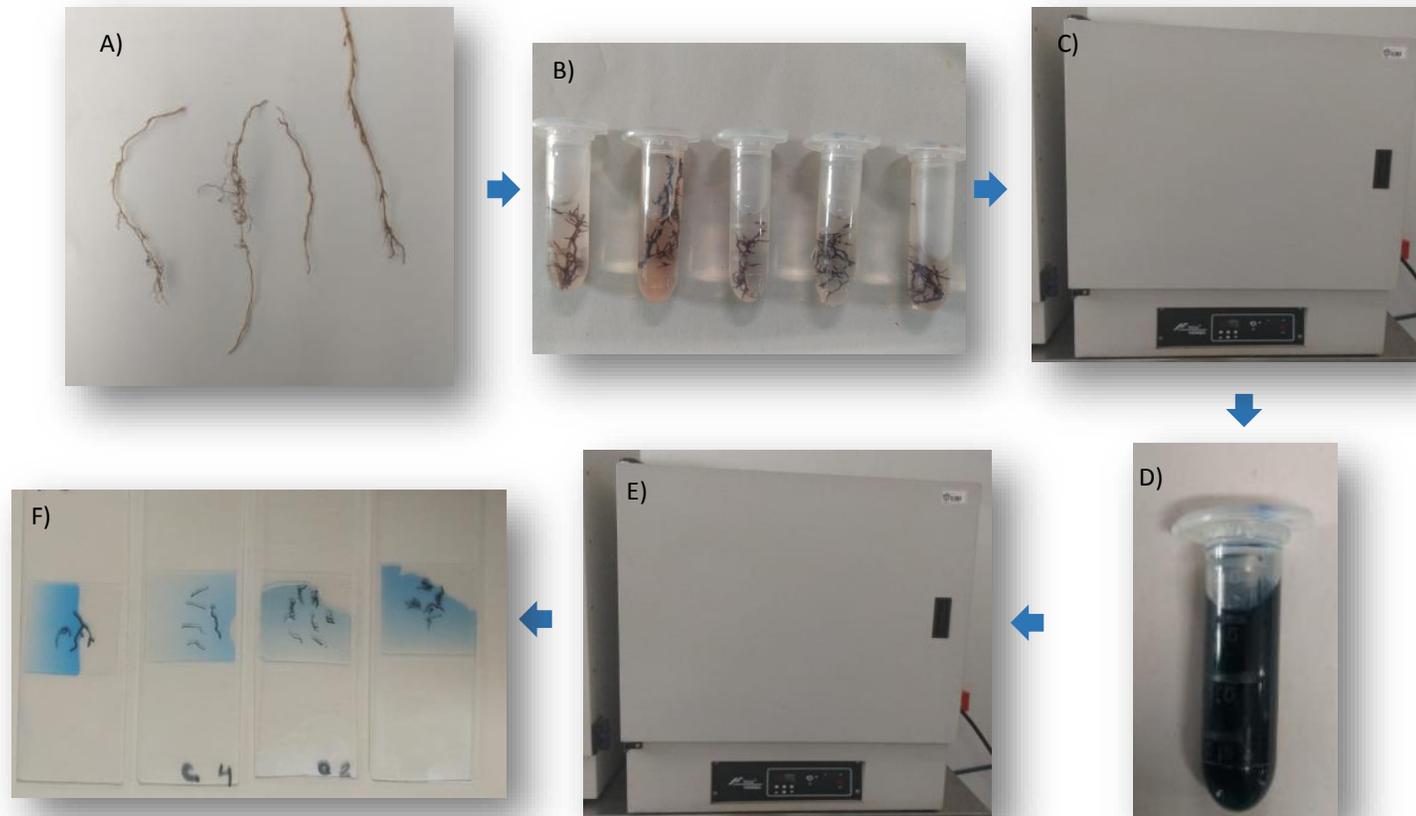


Figura 14. Proceso de tinción de raíces secundarias de *R. hybrida* para la determinación de la colonización micorrízica. A) Raíces lavadas y secadas, B) clarificación con KOH al 10 %, C) incubación a 90°C durante 60 min, D) raíces sumergidas en tinta azul (Parker Quink®) mantenidas a temperatura durante 30 minutos, E) incubación a 70 °C durante 30 minutos, y F) montaje de preparaciones temporales de fragmentos de raíz.

7. RESULTADOS

7.1. Abundancia de HMA

En los diez sitios muestreados se registró la presencia de HMA, la mayor abundancia en 100 cm³ de suelo se registró en el municipio de Coatepec Harinas (CH), con un promedio de 22.8 esporas; mientras que en el caso de las muestras de Tenancingo (T), en promedio se obtuvieron 17.4 esporas. En lo que respecta a la abundancia en cada sitio de muestreo, esta fue mayor en el sitio CH-1 con 37 esporas, seguido de CH-5 y T-1 con 29 esporas, CH-3 y T4 con 21 esporas, CH4 y T-2 con 16 esporas, T-5 con 13 esporas, CH-2 con 11 esporas y T-3 con 8 (Cuadro 3, Figura 15).

Cuadro 3. Valor de pH y abundancia de esporas de HMA en 100 cm³ de suelo cultivado con rosa en los municipios de Coatepec Harinas (CH) y Tenancingo (T), Estado de México.

Sitio	pH	Abundancia
CH-1	5.32	37
CH-2	6.44	11
CH-3	5.09	21
CH-4	5.1	16
CH-5	5.6	29
T-1	6.1	29
T-2	7.92	16
T-3	7.81	8
T-4	5.08	21
T-5	5.9	13

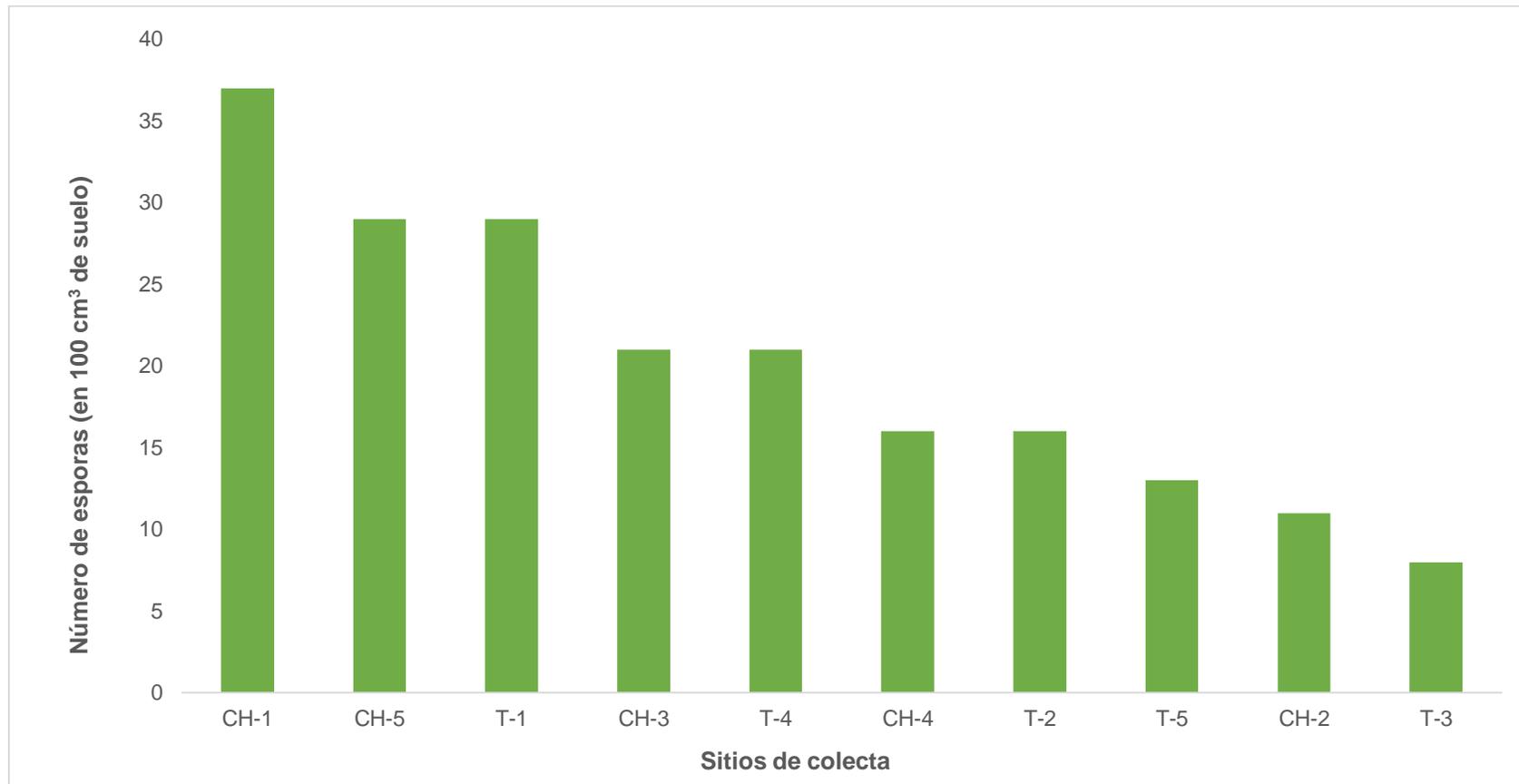


Figura 15. Abundancia de esporas de HMA en los sitios de colecta en los municipios de Coatepec Harinas (CH) y Tenancingo (T), Estado de México.

7.2. Caracterización morfológica de las esporas

De acuerdo con el INVAM (2022), a nivel morfológico, las esporas de los HMA se caracterizan por el tamaño, el color, la forma y la presencia de esporocarpo e hifa de sostén; siendo esta última estructura de utilidad para las observaciones e identificación a nivel microscópico. El color de las esporas observadas fue café, blanco, negro (Figura 16) y amarillo; siendo las más frecuentes las de color café.

La mayor diversidad de esporas se registró en el sitio CH-3, donde se observaron esporas de color café, negro y blanco; seguido de los sitios CH-1, CH-4, CH-5 T-1, T-2, T-4 con esporas color café y blanco y T-5 con presencia de esporas café y amarillo. La menor diversidad se registró en CH-2 y T-3 con solo esporas café (Cuadro 4).

Las esporas de color café estuvieron presentes en los diez sitios de colecta. Estas midieron de 40 a 60 μm de ancho y largo; cabe señalar que fueron de menor tamaño en T5, las cuales midieron 20-60 μm de largo x 20-40 μm de ancho. Las esporas blancas se identificaron en los sitios CH-3, CH-5, T-1, T-4 y T-5, el tamaño fue de 25-25 x 20-25 μm . Finalmente, solo se detectaron esporas negras en el sitio CH-3, estas midieron de 45 x 45 μm . Cabe señalar que en algunos casos no fue posible la recuperación de las esporas para su posterior medición, tal es el caso de las amarillas del sitio T-5 (Cuadro 4).

Cuadro 4. Caracterización morfológica de esporas de acuerdo con el color y tamaño en cada sitio de colecta.

Sitio	Color	Largo (μm)	Ancho (μm)	Esporas no recuperadas
CH-1	Café	40-60 (46.6)	40-60(49.1)	Blanco
CH-2	Café	50-60 (56.6)	40-60(53.3)	
	Café	40-60 (46)	40-60 (46)	
CH-3	Negro	45-45 (45)	45-45(45)	
	Blanco	40-40 (40)	40-40(40)	
CH-4	Café	40-42 (40.3)	40-60(46.6)	Blanco
CH-5	Blanco	25-25 (25)	20-25(22.5)	
	Café	40-50 (44.6)	40-50(42)	
T-1	Café	40-50 (44.6)	40-50(42)	
	Blanco	25-25 (25)	20-25(22.5)	
T-2	Café	40-60 (54)	40-60(48.4)	Blanco
T-3	Café	40-60 (50)	40-40(40)	
T-4	Café	40-60 (53.3)	40-45(37.3)	
	Blanco	40-40 (40)	40-40(40)	
T-5	Café	20-60 (36.6)	20-40(30)	Amarillo
	Blanco	40-40 (40)	40-40(40)	



Figura 16. Clasificación de esporas de acuerdo a su coloración A),B), C) Amarillo, D),E), F), G) Café, H), I) Negro, J), K), L) Blanco. Esp: esporocarpio. Hf: hifa de sostén.

7.3. Presencia de micorriza arbuscular en plantas de rosa

En los diez sitios de colecta se registró la presencia de plantas micorrizadas. Las estructuras observadas corresponden a las típicas de la micorriza arbuscular esporas intra y extra radicales (Figura 17), arbuscúlos (Figura 18), vesículas (Figura 19) y micelio intracelular (INVAM, 2022).

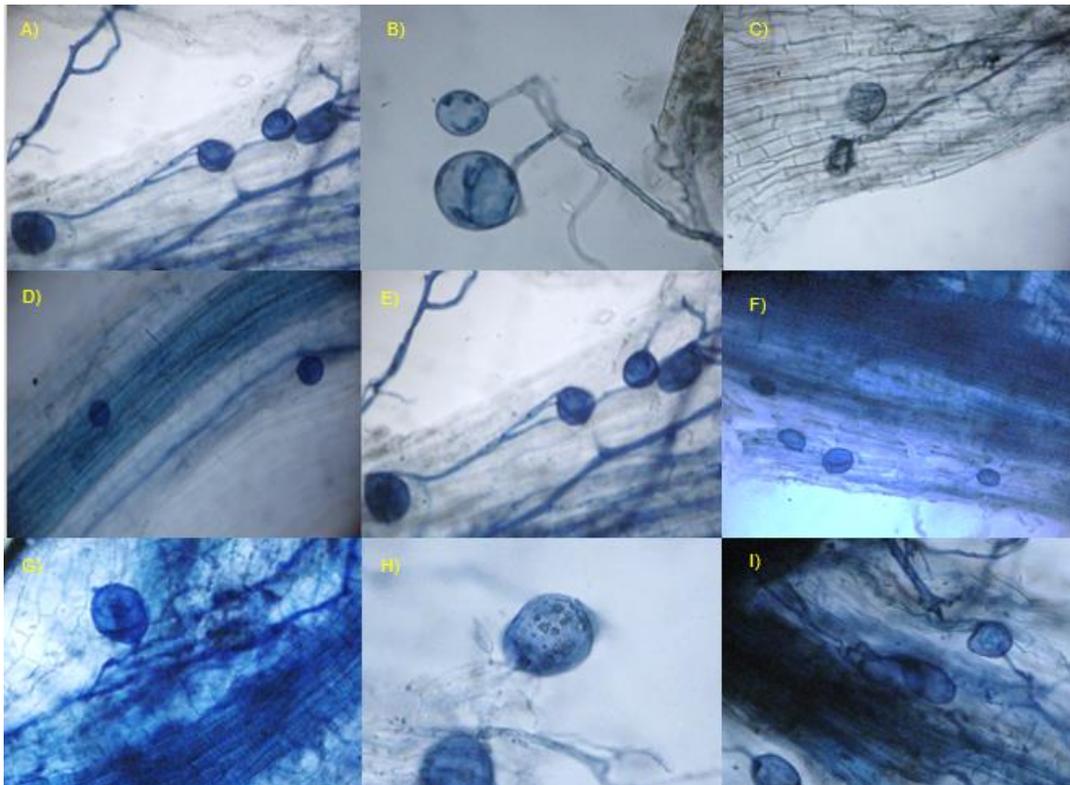


Figura 17. Esporas de micorrizas arbusculares presentes en raíces de rosa provenientes de los municipios de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México. A-C) esporas extra radicales; D-I) esporas intra radicales.

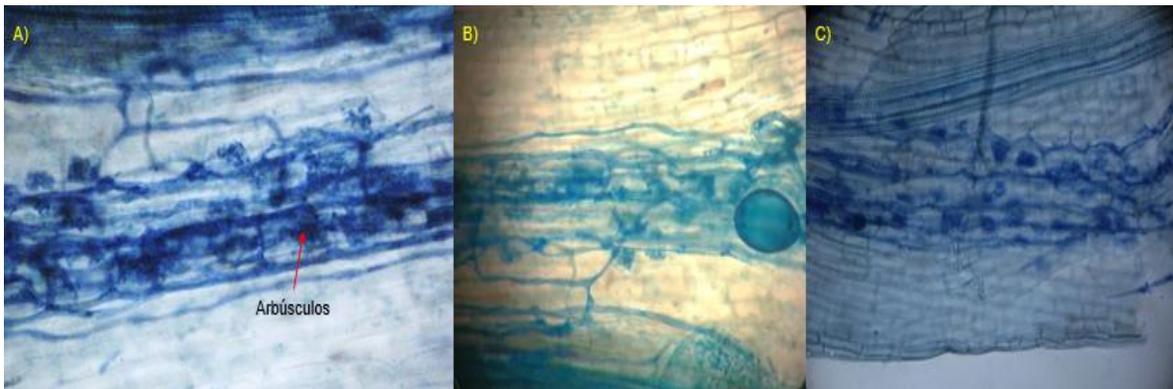


Figura 18. Arbúsculos (A,B,C) en raíces de rosa provenientes de los municipios de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México.

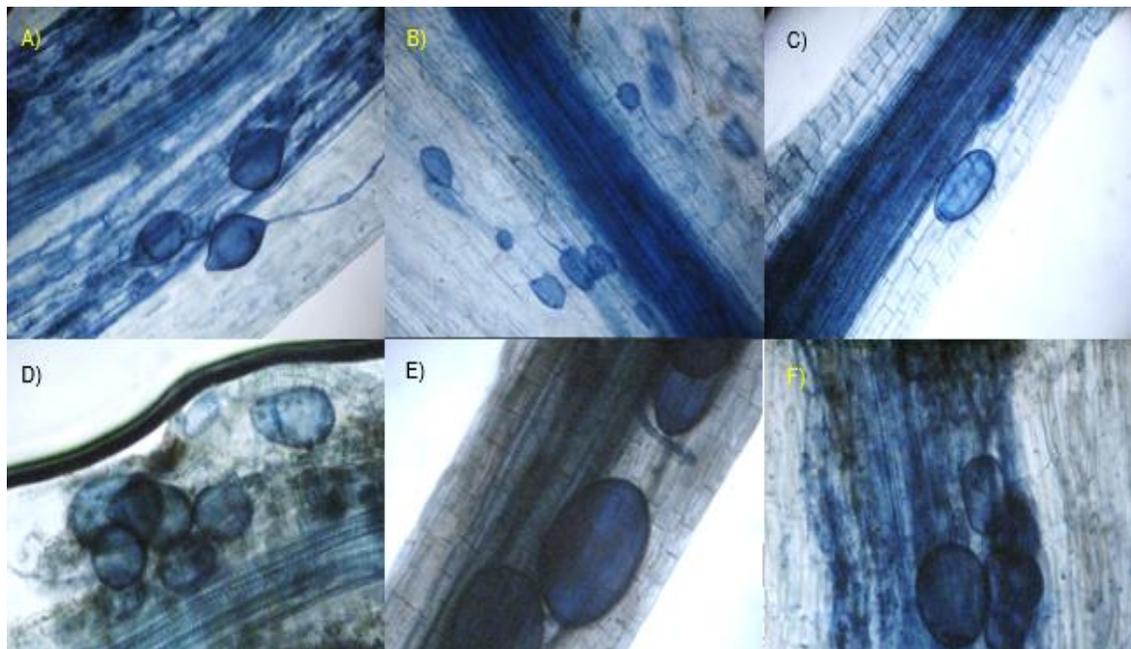


Figura 19. Vesículas (A-F) de micorrizas arbusculares presentes en raíces de rosa provenientes de los municipios de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México.

De manera general, las estructuras micorrízicas que se observaron con mayor frecuencia fueron las esporas. En el caso de Coatepec Harinas a esta estructura le siguió en porcentaje las vesículas y finalmente los arbuscúlos. Mientras que en Tenancingo, a la frecuencia de esporas le siguieron los arbuscúlos y enseguida las vesículas (Figuras 19 y 20).

7.3.1. Micorrización en plantas de Coatepec Harinas

No se registraron diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$) en el porcentaje de micorrización de las plantas colectadas en el municipio de Coatepec Harinas; no obstante, la mayor micorrización se encontró en las plantas de los sitios CH-2, CH-1 y CH-3, seguido de CH-5 y CH-4, con 88.6 %, 85.7 %, 82.9 %, 77.1 % y 71.4 % de micorrización, respectivamente (Cuadro 5, Figura 20).

Las estructuras que se identificaron con mayor frecuencia fueron esporas, seguido de vesículas y arbuscúlos. En el caso de CH-1 el porcentaje de esporas y vesículas fue de 34.2 % y 11.4 % de arbuscúlos. Para CH-2, el porcentaje esporas fue de 51.4 %, y de 17.1 % de vesículas y arbuscúlos. En lo que respecta al sitio CH-3 el porcentaje de esporas registrado fue de 34.2 %, 25.7 % de vesículas y 11.4 % arbuscúlos. En el caso de las muestras de CH-4 se observaron esporas en el 28.57 % de los segmentos analizados, 11.4 % para la colonización por vesículas y 2.8 % de arbuscúlos. Finalmente en CH-5 se obtuvo un 20 % en presencia de esporas, 25.7 % de vesículas y 2.8 % de arbuscúlos (Figura 20).

Cuadro 5. Comparación de medias del porcentaje de colonización micorrízica en raíces de rosa colectadas en cinco sitios de Coatepec Harinas, Estado de México.

Sitio	Porcentaje de colonización micorrízica
CH-4	71.4 ^a
CH-5	77.1 ^a
CH-3	82.9 ^a
CH-1	85.7 ^a
CH-2	88.6 ^a

Medias con una letra común, indican que no existen diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$).

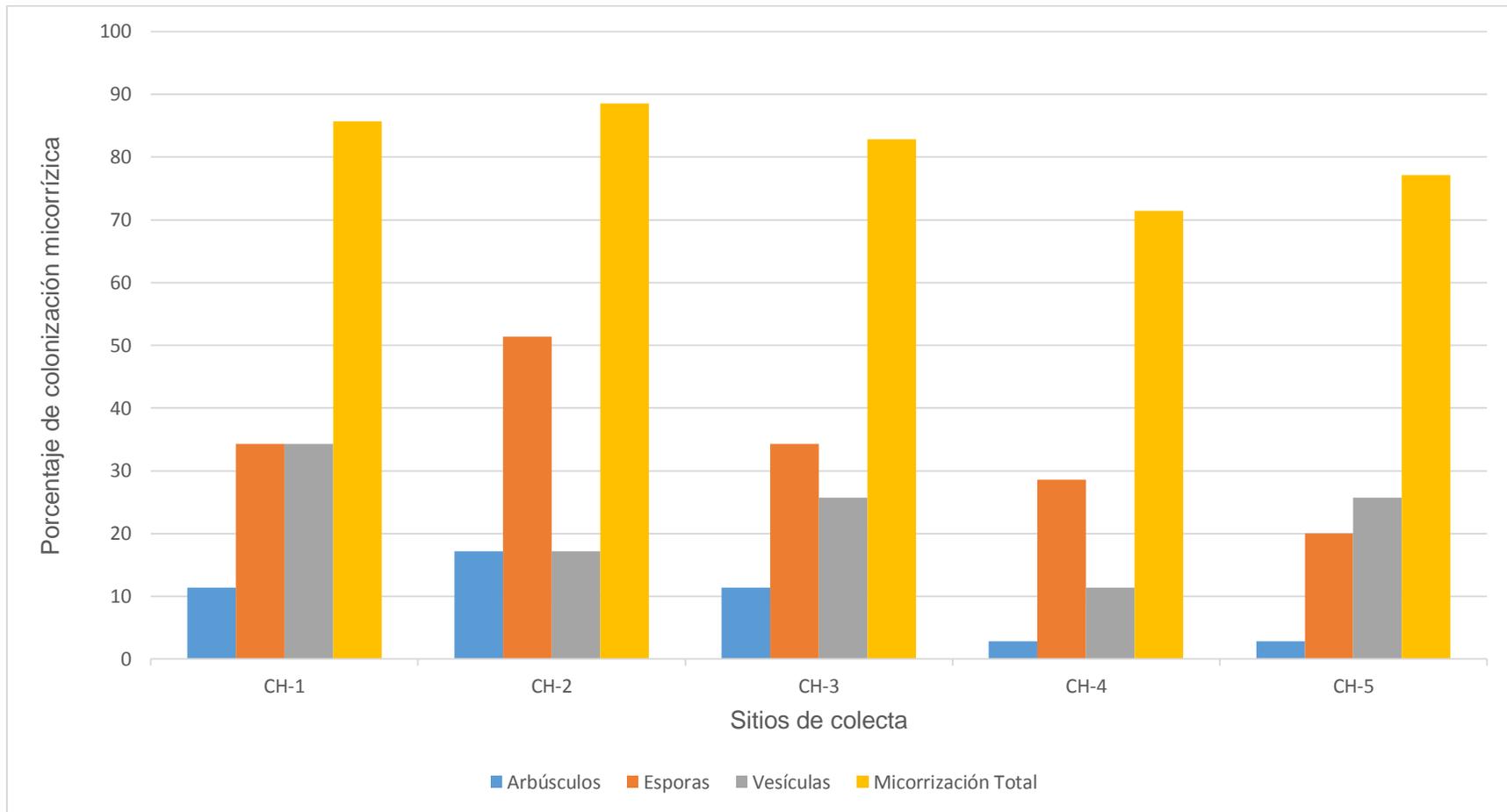


Figura 20. Colonización micorrízica, determinada en función de la presencia de arbusculos, esporas y vesículas, en plantas de rosa muestreadas en cinco sitios del municipio de Coatepec Harinas, Estado de México.

7.3.2. Micorrización en plantas de Tenancingo

Se registraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) en el porcentaje de micorrización de las plantas colectadas en el municipio de Tenancingo. La mayor micorrización se encontró en las plantas de los sitios T-4, T-1 y T-5, seguidos de T-3 y T-2. El porcentaje de micorrización para T-4 y T-1 fue de 85.7 %, en el caso de T-5 de 85.1 %, para T-3 de 80 %, y T-2 de 51.4 % (Cuadro 6).

Las estructuras que se identificaron con mayor frecuencia fueron esporas, seguido de arbuscúlos y vesículas. En el caso de T-1 el porcentaje de esporas fue de 37.1 %, 20 % de arbuscúlos y 5.7 % de vesículas. Para T-2 las estructuras que se observaron en menor frecuencia fueron las vesículas con presencia en el 11.4 % de los segmentos analizados, seguido de esporas con 20 %, y con mayor frecuencia arbuscúlos con 25.7 %. En T-3 se registraron esporas en el 34.2 % de los segmentos, 25.7 % de arbuscúlos y 11.4 % de colonización por vesículas. En lo que respecta a T-4 se obtuvo 48.5 % de colonización por esporas, 11.4 % arbuscúlos y 34.2 % vesículas. Finalmente, en T-5 se presentó 34.2 % de esporas, 11.4 % colonización por arbuscúlos y 25.7 % por vesículas (Figura 21).

Cuadro 6. Comparación de medias del porcentaje de colonización micorrízica en raíces de rosa colectadas en cinco sitios de Tenancingo, Estado de México.

Sitio	porcentaje de colonización micorrízica	
T-2	51.4	^a
T-3	80	^a ^b
T-5	85.1	^b
T-1	85.7	^b
T-4	85.7	^b

Medias con una letra diferente indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

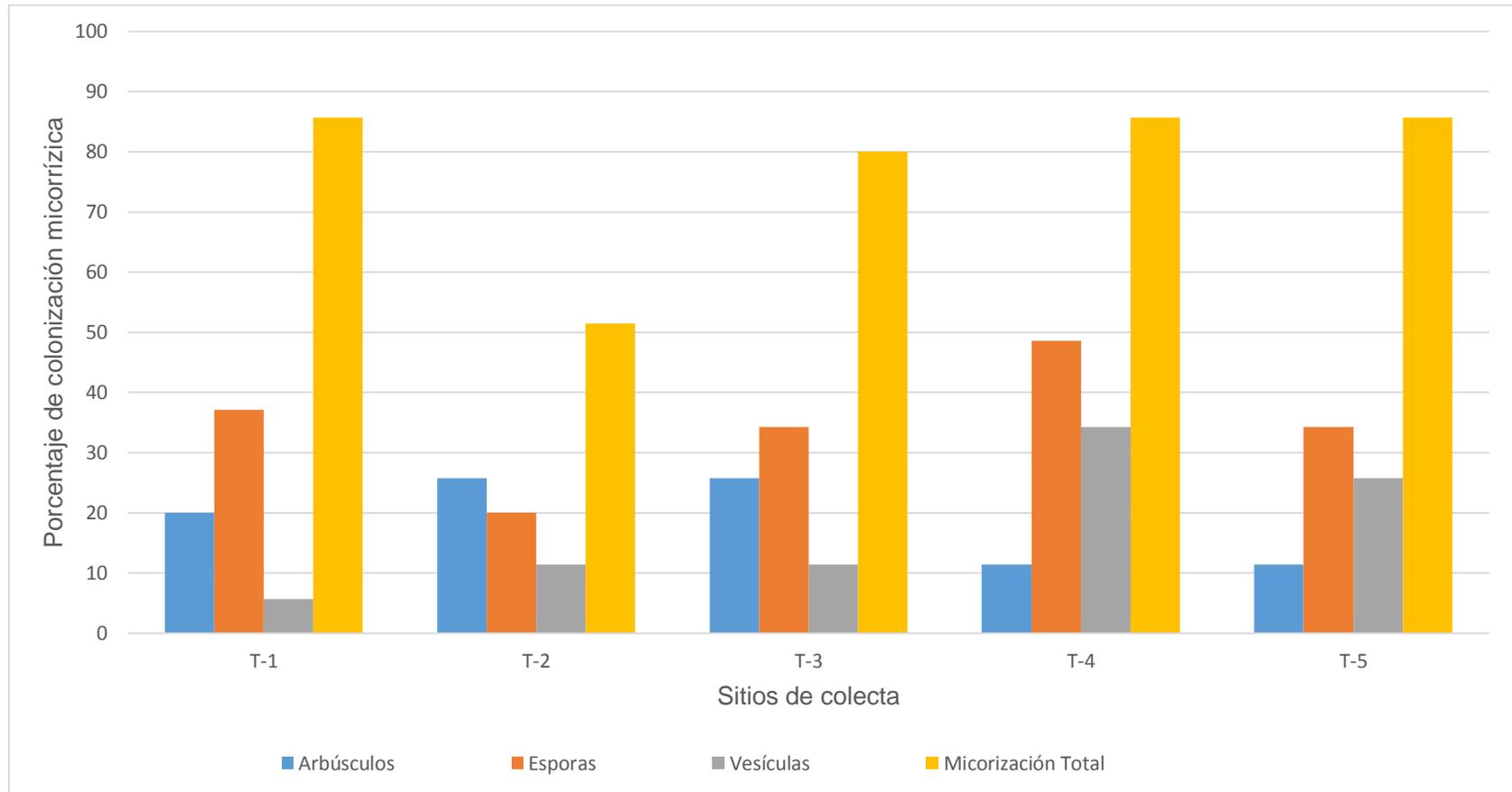


Figura 21. Colonización micorrízica, determinada en función de la presencia de arbúsculos, esporas y vesículas, en plantas de rosa muestreadas en cinco sitios del municipio de Tenancingo, Estado de México.

7.3.3. Comparación de la micorrización en plantas de Coatepec Harinas y Tenancingo

En lo que respecta a la comparación del porcentaje de micorrización en las plantas de ambos municipios, esta fue mayor en Coatepec Harinas con 81.1 %; mientras que en Tenancingo fue de 77.7 %. De acuerdo con el análisis de varianza, se registraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) en cuanto al porcentaje de micorrización de los diez sitios analizados. El sitio que presentó mayor colonización micorrízica fue CH-2 Con 88.5 %, en el caso de los sitios T-1, T-4, T-5, CH-1 el porcentaje de 85.7 %. Para CH-3 se observó un 82.8 % de colonización. En el caso de T-3 se registró un valor del 80 %, seguido de CH-5 con 77.1 %. El total para CH-4 fue de 71.4 %. Finalmente, T-2 presentó un valor de 51.4 % siendo este el sitio con menor colonización micorrízica (Cuadro 7).

Cuadro 7. Comparación de medias del porcentaje de colonización micorrízica en plantas de rosa muestreadas en diez sitios de los municipios Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México.

Sitio	Porcentaje de colonización micorrízica
T-2	51.4 ^a
CH-4	71.4 ^a b
CH-5	77.1 ^a b
T-3	80 ^a b
CH-3	82.8 ^a b
CH-1	85.7 ^a b
T-4	85.7 ^a b
T-1	85.7 ^a b
T-5	85.7 ^a b
CH-2	88.6 ^b

Medias con una letra diferente indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

8. DISCUSIÓN

A partir de los resultados del presente estudio se reporta la presencia de HMA en suelos cultivados con rosa bajo un sistema de producción convencional, en los municipios de Coatepec Harinas y Tenancingo, Estado de México. De acuerdo con diversos estudios estos organismos se encuentran distribuidos de manera natural tanto en suelos no perturbados como cultivados (Pérez, 2010); no obstante, su presencia puede ser nula o baja en suelos erosionados (Barrer, 2009).

De acuerdo con la información bibliográfica disponible, la presente investigación representa el primer estudio de HMA asociados al cultivo de rosa en México; ya que los reportados hasta el momento se centran en cultivos como maguey (López, 2006), caña de azúcar (Salgado-García *et al.*, 2014), aguacate (Montañez *et al.*, 2010), entre otros.

La mayor abundancia de HMA se detectó en el municipio de Coatepec Harinas con un promedio de 22.8 esporas en 100 cm³ de suelo (Figura 14), en comparación con Tenancingo donde se extrajeron en promedio 17.4 esporas; esto puede estar asociado con el manejo de los cultivos, la cantidad de materia orgánica, disponibilidad de nutrientes y otras condiciones edafoclimáticas. Es importante hacer énfasis que en ninguno de los cultivos muestreados se han inoculado productos comerciales de HMA, por lo que las esporas extraídas corresponden a especies nativas. En la literatura existen escasos estudios relacionados con la presencia natural de HMA en el cultivo de rosa, uno de estos es el llevado a cabo en Texas, EEUU, por Davies *et al.* en 1987 (citado por González-Chávez y Ferrera-Cerrato, 1994), en el cual los autores reportan que, en cultivos comerciales, las plantas estuvieron naturalmente colonizadas por *Glomus* spp. y *Gigaspora* spp.

El pH de los suelos muestreados en Coatepec Harinas se encontró entre 5.08 y 5.6, mientras que para Tenancingo el intervalo fue más amplio, siendo este entre 5.9 y 7.92; es preciso indicar que la cantidad de esporas extraídas no se encontró influenciada por este parámetro (Cuadro 3). Al respecto, Barrer (2009) menciona que el pH del suelo puede interferir en el número de esporas de algunas especies, muchas de las cuales presentan amplios intervalos de adaptación; por ejemplo, *A. morrowiae* y *A. scrobiculata* se encuentran en suelos con pH de 3.8 a 8.0, mientras que especies pertenecientes al género *Glomus* spp. tienen la capacidad de desarrollarse en cualquier tipo de suelo.

La caracterización morfológica de las esporas se realizó a través del registro del color y tamaño. El color de las esporas visualizadas fue variable, siendo más frecuentes en ambos municipios las de color café, seguido de las blancas, negras y amarillas (Figura 16). Las esporas de color negro solo se observaron en el sitio CH-3 de Coatepec Harinas y las amarillas en T-5 de Tenancingo. En lo que respecta al tamaño, las de color café midieron 40-60 x 40-60, las blancas de 25-40 x 20-40, y las negras 45 x 45; no se reporta tamaño de las amarillas debido a que no se recuperaron para realizar la medición (Cuadro 4). Para realizar una correcta identificación morfológica, los datos de color y tamaño no son suficientes, ya que como lo indica el INVAM (2022), también se debe considerar la forma de las esporas, la presencia y características del esporocarpo e hifa de sostén; además, se deben realizar estudios para examinar y contrastar las capas que componen la pared de las esporas y así determinar su consistencia, arreglo, reacción al reactivo de Melzer, presencia de ornamentaciones y tipo de hifa (INVAM, 2022; Rodríguez *et al.*, 2015).

De acuerdo con los resultados de caracterización morfológica, es evidente que tanto el color como el tamaño de las esporas es uniforme (Cuadro 4), por lo que se plantea

la hipótesis de que existe baja diversidad de HMA en los sitios muestreados; no obstante, esto debe ser confirmado en otras investigaciones dirigidas a la identificación de las especies. La baja diversidad de especies en suelos cultivados puede estar asociada a los sistemas de producción, ya que en todos los sitios de colecta se hace uso de agroquímicos para el manejo del cultivo; en este sentido, se ha observado que, en el cultivo de aguacate, la diversidad y abundancia de HMA es mayor en cultivos orgánicos en comparación con cultivos cuyo manejo es convencional (Carreón *et al.*, 2013).

Se observó la presencia de micorrizas arbusculares en el 100 % de los sitios muestreados; las estructuras observadas fueron: esporas intra y extra radicales (Figura 17), arbuscúlos (Figura 18) y vesículas (Figura 19), las cuales son estructuras típicas de este tipo de micorriza (Pérez, 2010). En general, las estructuras observadas con mayor frecuencias fueron esporas intra y extra radicales (Figuras 20 y 21), esto puede deberse a que los arbuscúlos son estructuras que presentan periodos de vida cortos; y en lo que respecta a las vesículas, no todas las especies de HMA las desarrollan (Barrer, 2009).

Se presentaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en cuanto al porcentaje de colonización micorrízica en los sitios de colecta (Cuadro 7); en las muestras del municipio de Coatepec Harinas varió entre 71.4 % y 88.6 % (Cuadro 5); mientras que en Tenancingo entre 51.4 % y 85.7 % (Cuadro 6). Se han obtenido resultados similares en otros cultivos, por ejemplo, en caña de azúcar cultivada en Tabasco se registró una colonización natural de 88.9 % (Salgado *et al.*, 2014); mientras que en nogal cultivado en Chihuahua está fue inferior, reportándose entre 13 y 32 % (Muñoz-Márquez *et al.*, 2009).

Derivado de lo anterior, se considera que el porcentaje de colonización reportado en la presente investigación es bueno; ya que existen estudios en los que a partir

de la inoculación de cepas comerciales se obtienen bajos porcentajes de colonización, tal como lo reporta Garmendia *et al.* (2008) en un cultivo de rosa en España, en el cual después de la inoculación de un producto comercial, este porcentaje no fue mayor al 10 %.

9. CONCLUSIONES

Se registró la presencia natural de hongos micorrizicos arbusculares en todos los sitios muestreados. La mayor abundancia (en 100 cm³) se registró en el municipio de Coatepec Harinas con un promedio de 22.8 esporas, mientras que en Tenancingo se registraron 17.4.

De acuerdo con el color y tamaño de las esporas se plantea la hipótesis de que existe baja diversidad de hongos micorrizicos arbusculares en la mayoría de los sitios muestreados.

Se registró la presencia de micorriza arbuscular en los diez sitios muestreados. La mayor micorrización se presentó en las muestras del municipio de Coatepec Harinas con 81.1 %, mientras que en Tenancingo fue de 77.7 %.

10. RECOMENDACIONES

1. Identificar a nivel de género y especie a los hongos micorrízicos arbusculares asociados al cultivo de rosa en la zona florícola del Estado de México.
2. Realizar investigaciones dirigidas a la reproducción y conservación de las especies de hongos micorrízicos arbusculares de la región; ya que al ser nativas se encuentran adaptadas a las condiciones edafoclimáticas de la zona.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón, A. (2014). Micorriza arbuscular. Pp 90-119. *In*: Ferrera-Cerrato R. y Alarcón A. (eds). Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico y planta-microorganismo México. Editorial Trillas. 568 p.
- Albornoz, P., Varela, O., Díaz, J. (2014). Micorrizas arbusculares y endófitos septados oscuros en tres especies de Rosáceas de Argentina. *Lilloa*, 51(1), 9–19.
- Brundrett, M. (2008). Mycorrhizal associations. Recuperado de: <https://mycorrhizas.info/#>. Consultado 2 de abril 2022.
- Barrer, S. (2009). El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 7(1), 123-132.
- Bertolini, V., Montaña, N., Sánchez, E., Fregoso, L., Ruiz, J., Vázquez, J. (2017). Abundancia y riqueza de hongos micorrizógenos arbusculares en cafetales de Soconusco, Chiapas, México. *Revista de biología tropical*, 66(1), 91-105.
- Blanco, F., Salas, E. (1997). Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en costa rica. *Agronomía costarricense*, 21(1), 55-67.
- Carreón, Y., Jerónimo, E., Beltrán, M., Martínez, M., Aguilar, D., Gavito, M. (2013). Aislamiento y propagación de cultivos puros de hongos micorrízicos arbusculares provenientes de huertas de aguacate con diferente manejo agrícola por la técnica de minirizotróf. *Revista Mexicana de Micología*, (37),29-39.

- Carreón, Y., Gómez, N., Martínez, M. (2008). Las micorrizas arbusculares en la protección vegetal. Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 1-11.
- Camargo-Ricalde S.L. (1999). Hongos Micorrizógenos Arbusculares. Departamento de Biología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, 31, 62-67.
- Camargo-Ricalde S.L., Montañó, M., De la Rosa-Mera, C., Montañó Arias, S. (2012). Micorrizas una gran unión debajo del suelo. Revista Digital Universitaria, 13 (7), 1-19.
- Camarena, G. (2012). Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, 18(3), 409- 421.
- Catalogue of life. (2021). Glomeromycota. Recuperado de: <https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/4M>. Consultado 20 de abril de 2021.
- De La Cadena Vera, J. (2005). Efecto de la inoculación con Micorriza Vesículo-Arbuscular en la producción de rosas en Pichincha, Ecuador. Zamorano Honduras. 1-28.
- Deemy [Determination of ectomycorrhizae]. (2022). Images Deemy. Recuperado de <http://www.deemy.de/>. consultado marzo 26 de 2022.
- Díaz-Franco A., Alvarado-Carrillo, M., Ortiz-Chairez, F. y Grageda-Cabrera, O. (2013). Nutrición de la planta y calidad de fruto de pimiento asociado con micorriza arbuscular en invernadero. Revista Mexicana Ciencias Agrícolas, 4(2),315-321.

- Finlay, R. (2008). Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany*, 59(5), 1115-1126.
- Galindo, G., Castillo, C., Campos, A. & Lara, C. (2015). Caracterización de las ectomicorrizas formadas por *Laccaria trichodermophora* y *Suillus tomentosus* en *Pinus montezumae*. *Botanical Sciences*. 93(4), 855- 863.
- Garmendia, I., Oltra, M. & Mangas, M. (2008). Aplicabilidad de las micorrizas arbusculares en la producción de rosa para corte. Pp 9-26. En: Caravello, G., Conard, S., Farina, A., Ferchichi, A. y Taiñqui, L. (2008). *Mediterranea Serie de estudios Biológicos. Época II, No. 19.* Universidad de Alicante, Departamento de Ecología. Facultad de Ciencias. España. 255 p. Disponible en línea: https://www.researchgate.net/publication/39657290_Aplicabilidad_de_las_micorrizas_arbusculares_en_la_produccion_de_rosa_para_corte. Consultado junio 30 de 2022.
- Grimaldo, O., Aguilar, S. & Gonzalez, D. (2007). Caracterización de hongos ectomicorrízicos en un bosque de *Pinus jeffreyi* y su uso potencial como inóculo. *Comisión Nacional Forestal*. 1-45.
- González-Chávez, C & Ferrera-Cerrato, R. (1994). Los hongos endomicorrizicos en la producción de cultivos de interés ornamental. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 1, 114-118.
- Hernández-Acosta, E., Trejo-Aguilar, D., Ferrera-Cerrato, R., Rivera-Fernández, A. & González-Chávez, M. (2018). Hongos micorrízicos arbusculares en el crecimiento de café (*Coffea arabica* L.) variedades garnica, catimor, caturra y catuaí. *Agroproductividad*, 11(4), 61-67.

INVAM [International culture collection of vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi]. (2022). Species descriptions. Recuperado de <https://invam.wvu.edu/>. Consultado Mayo 19 de 2022.

López I. (2006). Hongos de micorriza arbuscular en diferentes sistemas de producción de maguey mezcalero (*Agave angustifolia* Haw.) En Oaxaca. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. 1-92.

Marschner H. (1995). Mineral Nutrition in Higher Plants, 2a ed, Academic Press, Londres. 1-889.

Merton Z. B., Mai W. F. & Harrisom M. B. (1987). Fitonematología: manual de laboratorio. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. 248.

Muñoz-Márquez, E., Macías-López, C., Franco-Ramírez, A., Sánchez-Chávez, E., Jiménez-Castro, J. & Gonzales-García, J. (2009). Identificación y colonización natural de hongos micorrízicos arbusculares en nogal. en Terra Latinoamericana 27, 355-361.

Montañez, I., Vargas, C., Cabezas, M. & Cuervo, J. (2010). Colonización micorrizica en plantas de aguacate (*persea americana* L.). Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica 13(2), 51-60.

Nazareno, M., Ruscitti, M. & Arango, M. (2020). Micorrizas arbusculares biología y aplicaciones en el sector agro-forestal. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Editorial de la Universidad de La Plata Argentina, 1-135.

- Orozco, I., Sarmiento, C., Gutiérrez, M., Andrade, J. (2010). Colonización micorrizica en plantas de aguacate (*Persea americana* L.). Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 13(2), 51-60.
- Pérez, A. Vertel, M. (2010). Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus. Revista MVZ Córdoba, 15(3), 2165-2174.
- Pérez, U., Ramírez, M., Serralde, D., Peñaranda, A., Wilches, W., Ramirez, L. & Rengifo, Gersain. (2019). Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) Como estrategia para reducir la absorción de cadmio en plantas de cacao (*Theobroma cacao*). Terra Latinoamericana, 37(2): 121-130.
- Peterson, L., Massicote, H., Melville, L. (2004). Mycorrhizas: Anatomy and cell biology. Ottawa: NRC Research Press, 1- 173.
- Peterson, L., Massicote, H. (2004). Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interphases. Canadian Journal Botany, 82. 1074- 1088.
- Ramos, J., Marrufo, D., Guadarrama, & P., Carrillo, L. (S/A). Hongos micorrizicos arbusculares. Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. 170-172.
- Reyes, A., Quiñonez, E., Rincón, G., López, L. (2016). Micorrización en *Capsicum annuum* L. para promoción de crecimiento y bioprotección contra *Phytophthora capsici* L. Revista Mexicana. Ciencias. Agrícolas 7(4),1-14

- Rodríguez, Y., Arias, I., Medina, A., Mujica, Y., Medina, L., Fernández, K., Mena, E. (2015). Alternativa de la técnica de tinción para determinar la colonización micorrizica. Ministerio de educación superior. Cultivos tropicales, 36(2),18-21.
- Salgado, S., Castelan, M., Jimenez, R., Gomez, J. & Osorio M. (2014). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en suelos cultivados con caña de azúcar en la región de Chontalpa, Tabasco. Revista Mexicana de Micología, 40, 7-16.
- Sarabia, M., Madrigal, R., Martínez, M & Carreón, Y. (2010). Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 12(1), 65–71.
- Smith, S. & Read, D. (2008). Mycorrhizal symbiosis. Third Edition. Academic Press. USA. 787 p.
- Schüßler, A., D. Schwarzott and C. Walker. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. Mycological Research, 105(12),1413-1421.
- Torres, A. (2010). Micorrizas antigua interacción entre plantas y hongos. Veracruz Ciencia Academia Mexicana de Ciencias, 84-90.

12. ANEXOS

Anexo 1. Importancia del cultivo de rosa

En México la producción de rosa como flor de corte apoya al fortalecimiento de la economía, sobre todo en fechas conmemorativas donde se presenta alta demanda (SIAP, 2021). Los países a los que se exporta son Estados Unidos, Canadá, Japón, Países Bajos, España, entre otros; del año 2018 a 2021 el valor total de las exportaciones aumentó de USD \$ 545,743.00 a USD \$ 1,053,763.09, lo que representa un incremento del 193 %, cabe señalar que el mayor incremento se presentó en 2021 (Cuadro 1) (SIAVI, 2022).

Cuadro 1. Valor de las exportaciones de rosa como flor de corte y principales países a los que México exporta (Fuente: SIAVI, 2022).

Año	Valor de las exportaciones (USD \$)	Países a los que se exporta
2018	545,743.00	Estados Unidos Bielorusia Canadá
2019	556,922.25	Guatemala Honduras Países bajos Estados Unidos Bielorusia Canadá Japón
2020	598,944.66	Países bajos Estados Unidos Canadá Japón
2021	1,053,763.09	Canadá España Estados Unidos

De acuerdo a datos del SIAP (2021), la mayor producción de rosa se concentra en cinco entidades, siendo el Estado de México el principal productor con un valor de producción de MXN \$ 1,292,548,720, seguido de Puebla con MXN \$ 196,362,890, Querétaro con un total de MXN \$ 143,459,280, Morelos con MXN \$110,067,360 y Jalisco con un valor de producción de MXN \$43,085,490.

En lo que respecta al Estado de México, los principales municipios productores son Villa Guerrero, Tenancingo y Coatepec de Harinas. A nivel estatal, de 2018 a 2020 la superficie cultivada de rosal presentó un incremento, en el año 2018 se cultivaron un total de 849.00 ha, para el año 2019 aumentó a 858.50 ha y finalmente en 2020 se incrementó a 860.00 ha (Cuadro 2) (SIAP, 2021). En cuanto al valor de la producción en el periodo 2018 - 2021, también se ha observado un aumento importante, en 2018 este fue de MXN \$ 1, 643, 010, 150 mientras que para 2021 a MXN \$ 1,845,712, 780 lo que representa un incremento del 112 % (Cuadro 2) (SIAP, 2021).

Cuadro 2. Superficie cultivada de rosa y valor de la producción en el Estado de México (Fuente: SIAP, 2021).

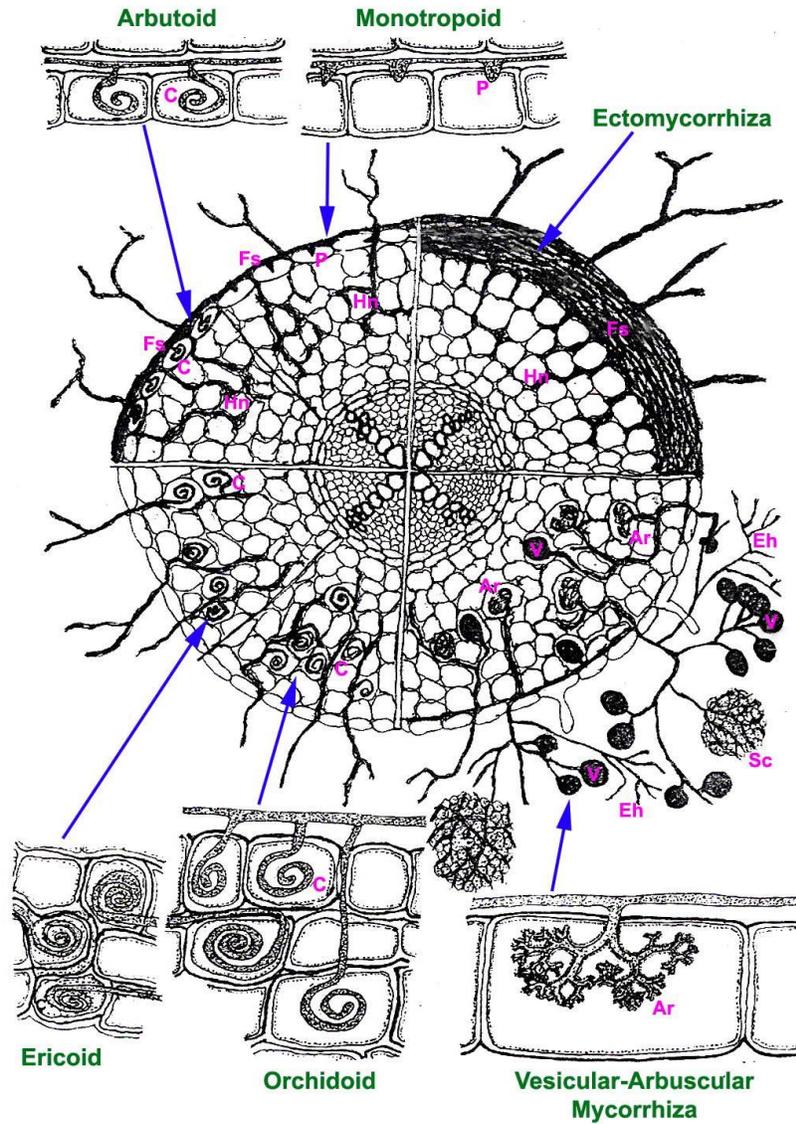
Año	Superficie cultivada (ha)	Valor de la producción (MXN \$)
2018	849.00	1,643,010, 150
2019	858.50	1,557,774, 790
2020	860.00	1,292,548, 720
2021	863.00	1,845,712, 780

Referencias bibliográficas

SIAP [Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera]. 2021. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Recuperado de: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. Consultada 14 de diciembre 2021.

SIAVI [Sistema de Información Comercial Vía Internet] Recuperado de: <http://siavi.economia.gob.mx/>. / . Consultada 19 de febrero de 2022.

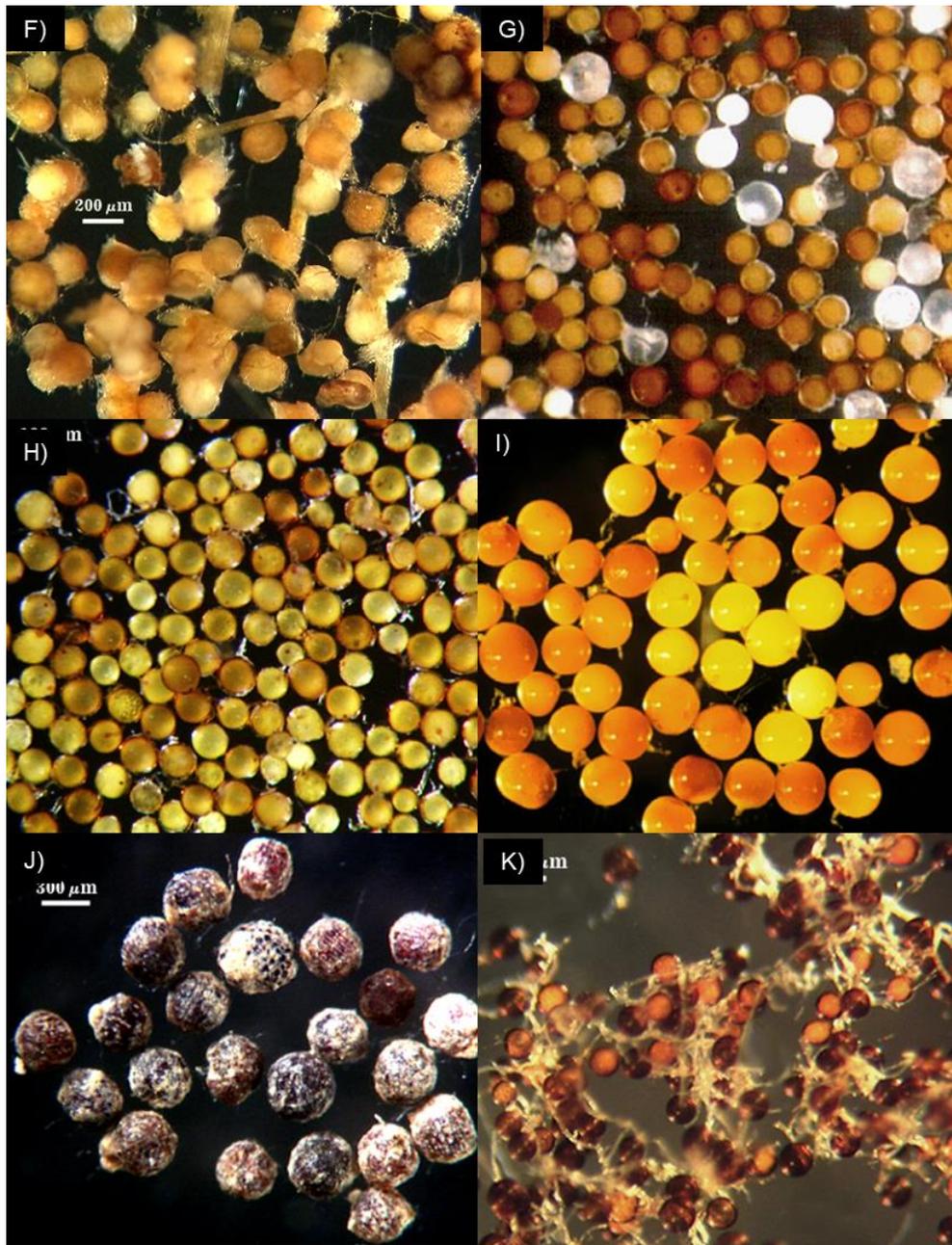
Anexo 2. Tipos de micorrizas: ectomicorriza, arbuscular, orquideoide, ericoide, arbutoide y monotropoide. Simbología: Ar: arbusculo; C: enrollamiento hifal; Eh: hifa extra radical; Hn: red de Harting; Fs: manto; P: Protusión; Sc: esclerocio; V: vesícula (Tomado de: Agarwal y Sah, 2009).



Anexo 3. Características morfológicas de las esporas de especies de hongos micorrízicos arbusculares (Tomado de: INVAM, 2022).



A) *Acaulospora rehmii*, B) *Ambispora leptoticha*, C) *Cetraspora pellucida*, D) *Claroideoglossum lamellosum*, E) *Dentiscutata erythropha*.

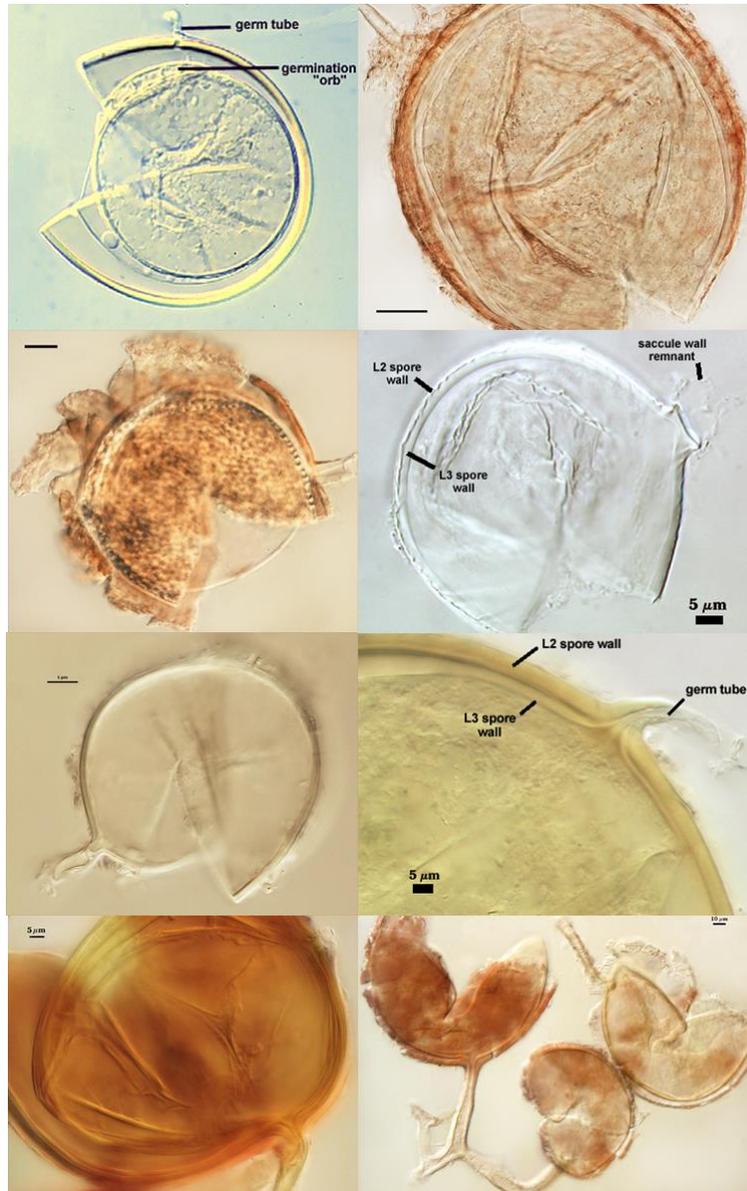


F) *Diversispora tortuosa*, G) *Entrophospora infrequens*, H) *Funneliformis geosporum*, I) *Gigaspora gigantea*, J) *Glomus clavisorum*, K) *Glomus ambisporum*.

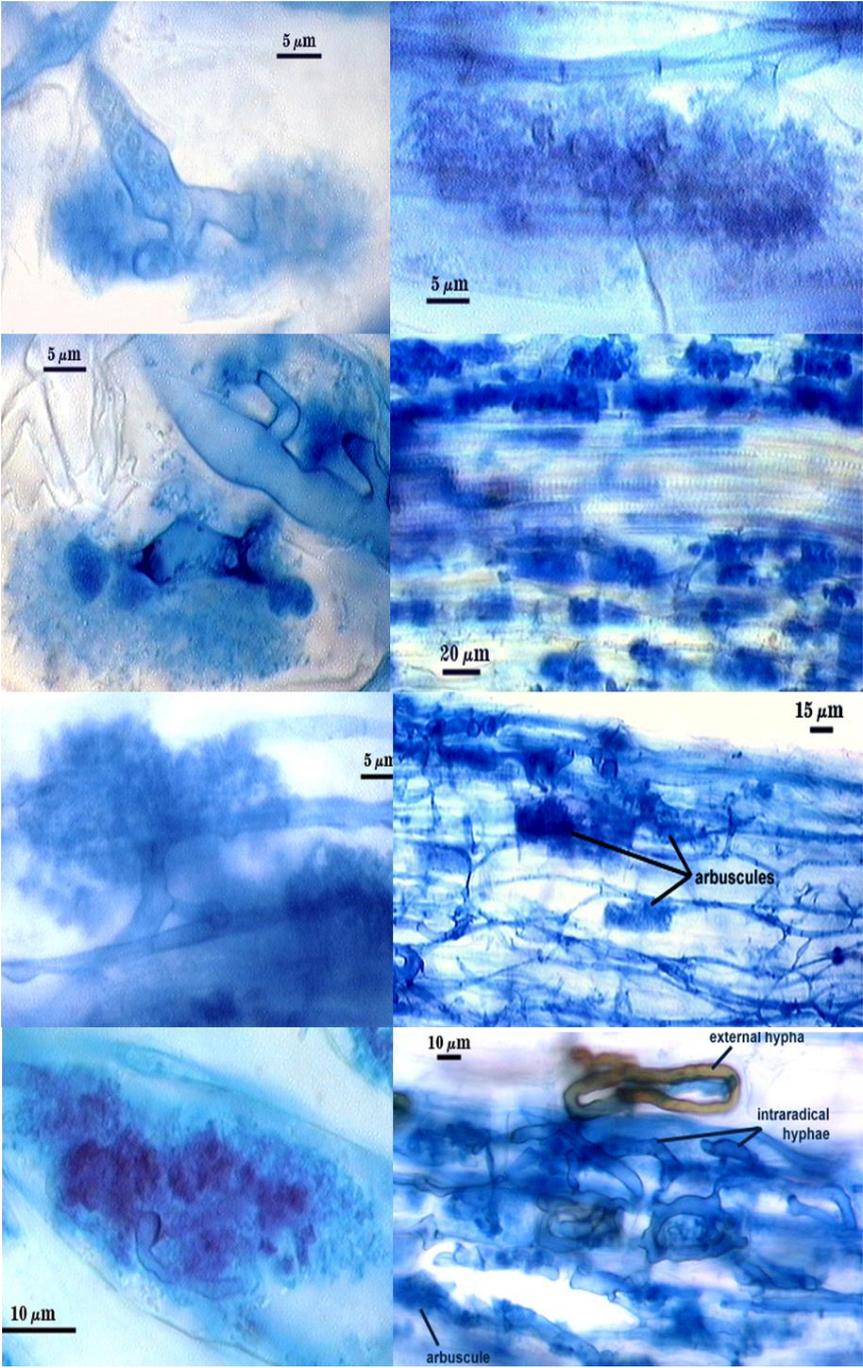


L) *Paraglomus brasilianum*, M) *Racocetra fulgida*, N) *Rhizophagus intraradices*, O) *Rhizophagus sinuosum*, P) *Scutellospora dipurpurascens*.

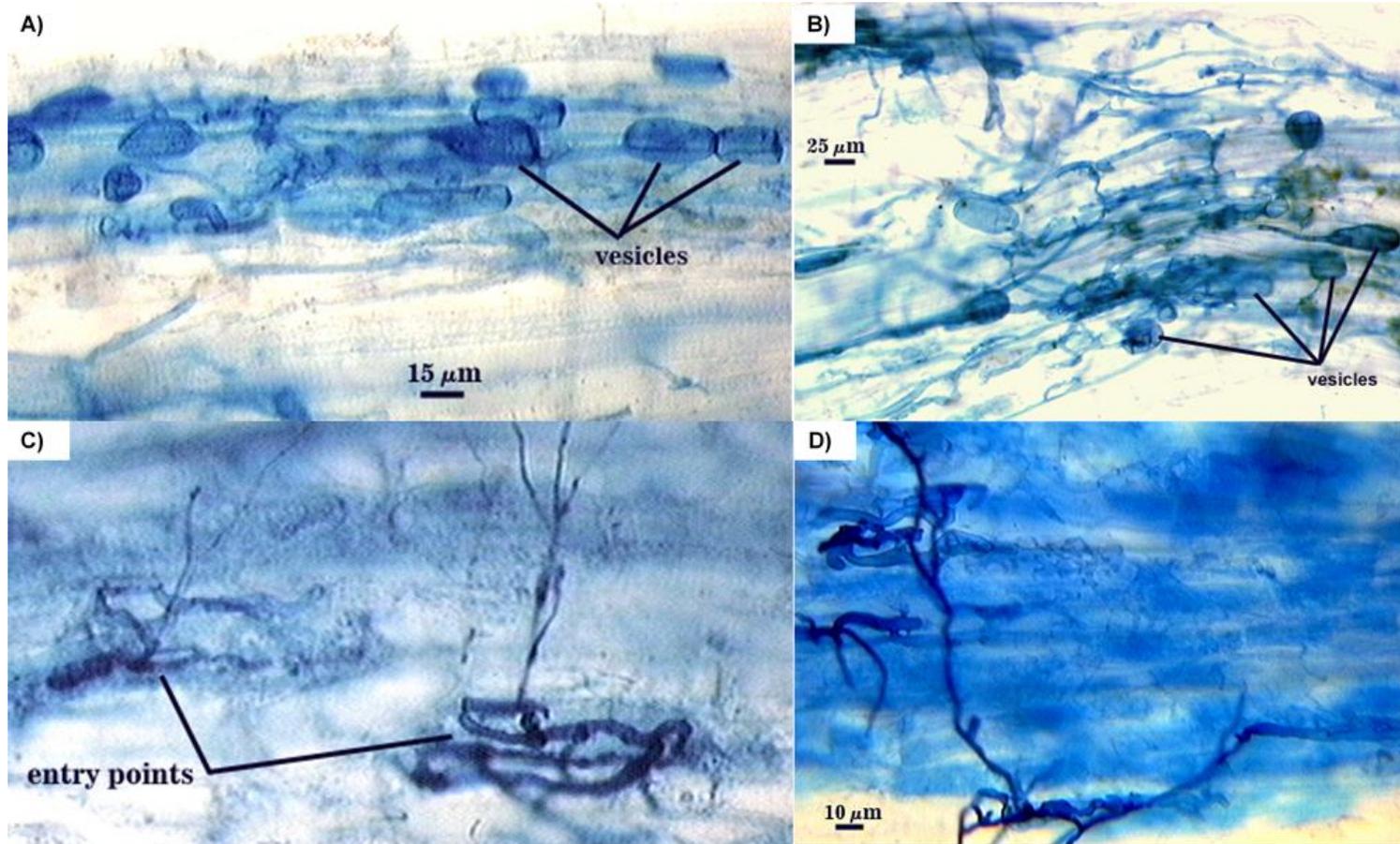
Anexo 4. Microfotografías de esporas de hongos micorrízicos arbusculares, algunas rotas y otras enteras, mostrando distintos colores, paredes y formas. L: lámina (Tomado de: INVAM, 2022).



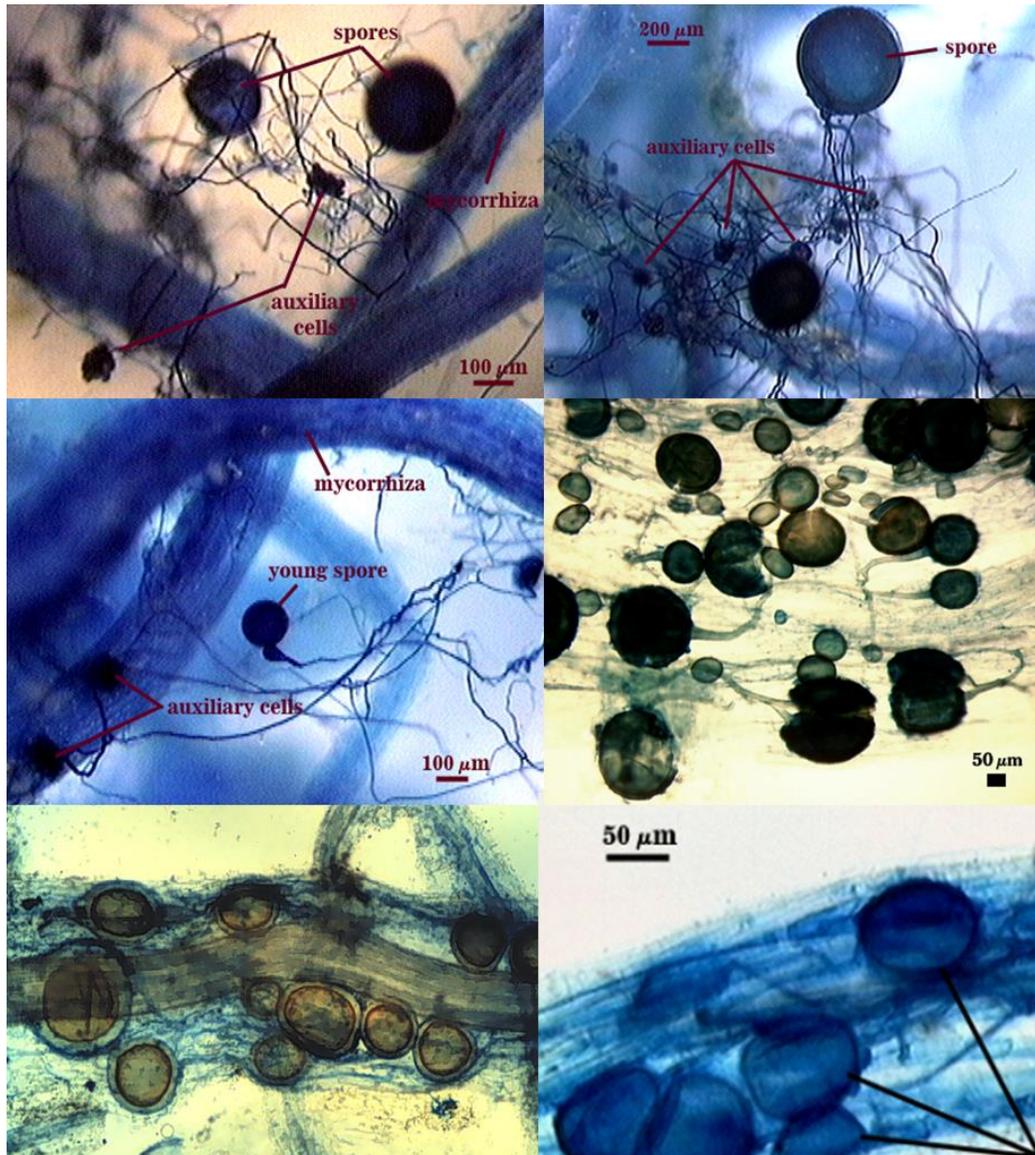
Anexo 5. Arbúsculos desarrollados en raíces de maíz (Tomado de: INVAM, 2022).



Anexo 6. Vesículas (A y B) y micelio intra radical (C y D) desarrollados en raíces de maíz (Tomado de: INVAM, 2022).



Anexo 7. Esporas de hongos micorrízicos arbusculares desarrollados en raíces de maíz (Tomado de: INVAM, 2022).



Anexo 8. Constancia de participación en el Sexto Ciclo de Conferencias Sobre la Sustentabilidad en la Floricultura, con la ponencia titulada: Hongos micorrízicos arbusculares asociados al cultivo de *Rosa sp.*, en Coatepec Harinas, Estado de México.



Universidad Autónoma del Estado de México
Centro Universitario Tenancingo

OTORGA LA PRESENTE:

CONSTANCIA

A: José Gabriel Ocampo Nava
Rómulo García Velasco
Grisel Domínguez Arizmendi

Por su participación con la ponencia “**Hongos micorrízicos arbusculares asociados al cultivo de *Rosa sp.*, en Coatepec Harinas, Estado de México**” presentada en el marco del **Sexto Ciclo de Conferencias Sobre la Sustentabilidad en la Floricultura**, el día 20 de febrero de 2020.

ATENTAMENTE

PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO

“2020, Año del 25 Aniversario de los Estudios de Doctorado en la UAEM”

DR. EN C. SOTERO AGUILAR MEDEL
DIRECTOR



Centro Universitario
UAEM Tenancingo

Carretera Tenancingo – Villa Guerrero Km.
1.5, Tenancingo, Estado de México C.P.
52400. Tels. 01 714 14 077 24 y 01 714 14 077
25, <http://cutenancingo.uaemex.mx/>



Anexo 9. Constancia de participación en el Séptimo Ciclo de Conferencias Sobre la Sustentabilidad en la Floricultura, con la ponencia titulada: Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares asociados al cultivo de rosa en Coatepec Harinas, Estado de México.



Universidad Autónoma del Estado de México
Centro Universitario Tenancingo

OTORGA LA PRESENTE:

C O N S T A N C I A

A: GABRIEL OCAMPO NAVA
GRISEL DOMÍNGUEZ ARIZMENDI
RÓMULO GARCÍA VELASCO

Por su participación con la ponencia: “**Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares asociados al cultivo de rosa en Coatepec Harinas, Estado de México**” (modalidad protocolo de investigación), presentada en el marco del **Séptimo Ciclo de Conferencias Sobre la Sustentabilidad en la Floricultura**, el día 23 de febrero de 2021.

Tenancingo, Edo. Méx. a 23 de febrero de 2021

ATENTAMENTE
PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO

“2021, Celebración de los 65 años de la creación de la Universidad Autónoma del Estado de México”



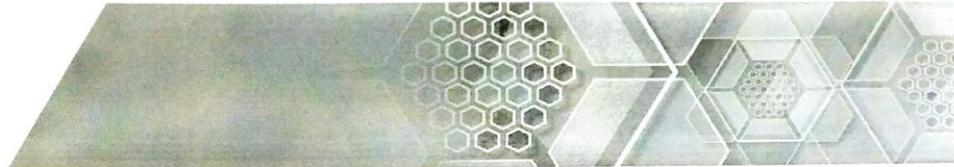
Centro Universitario
UAEM Tenancingo


DR. EN C. SOTERO AGUILAR MEHEL
DIRECTOR

Carretera Tenancingo – Villa Guerrero Km.
1.5, Tenancingo, Estado de México C.P.
52400. Tels: 01 714 14 077 24 y 01 714 14 077
25. <http://cutenancingo.uaemex.mx/>



Anexo 10. Constancia de participación en el Octavo Ciclo de Conferencias Sobre la Sustentabilidad en la Floricultura, con la ponencia titulada: Micorriza arbuscular en el cultivo de rosa.



Otorga la presente

Constancia

A

JOSÉ GABRIEL OCAMPO NAVA, GRISEL DOMÍNGUEZ ARIZMENDI Y RÓMULO GARCÍA VELASCO

Por su participación con la ponencia “**Micorriza arbuscular en el cultivo de rosa**” presentada en el marco del Octavo Ciclo de Conferencias Sobre la Sustentabilidad en la Floricultura

Tenancingo, Edo. Méx. a 21 de febrero de 2022

Patria, Ciencia y Trabajo

“2022, Celebración de los 195 Años de la Apertura de las Clases en el Instituto Literario”



Centro Universitario
UAEM Tenancingo

Doctor en Ciencias
Sotero Aguilar Medel
Director

